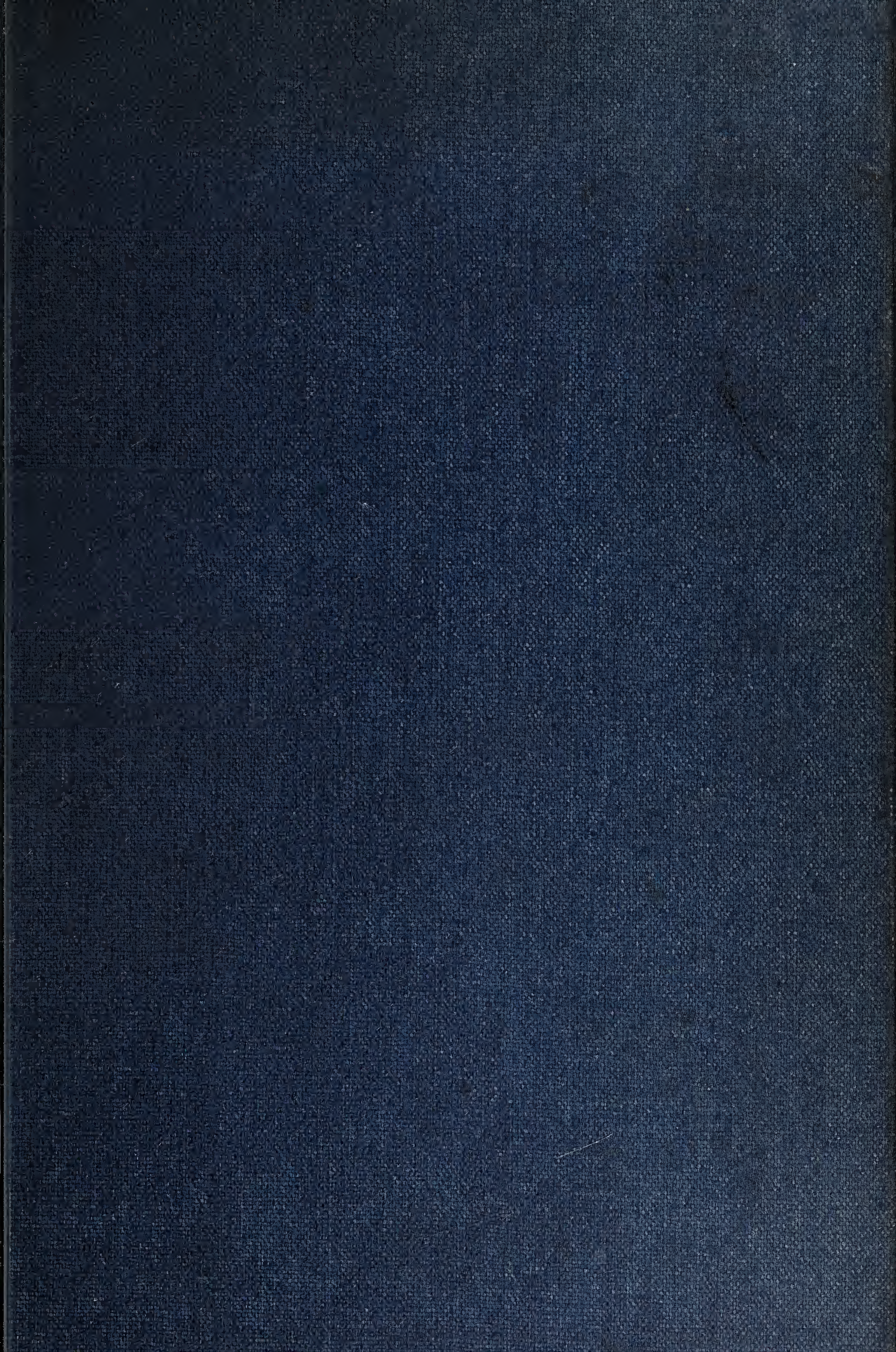



22500817621

Med
K31674

Digitized by the Internet Archive
in 2017 with funding from
Wellcome Library

https://archive.org/details/b2981263x







DER GALLENFARBSTOFF IM BLUTE



DER GALLENFARBSTOFF IM BLUTE

VON

Dr. A. A. Hijmans van den Bergh
DIRECTOR DER MEDIZINISCHEN KLINIK, UTRECHT

Nach Untersuchungen mit Dr. I. Snapper, damals erstem Assistenten der Klinik, zur Zeit Professor an der Universität von Amsterdam, und Dr. P. Muller, Conservator des chemischen Laboratoriums der Klinik an der Universität Utrecht

ZWEITE NAHEZU UNVERÄNDERTE AUFLAGE



LEIDEN
S. C. VAN DOESBURGH
1928

LEIPZIG
JOHANN AMBROSIUS BARTH
1928


UNIVERSITY COLLEGE LONDON

1123662

WELLCOME INSTITUTE
LIBRARY

Coll.	WelMOmec
Coll. No.	WM

37406

VORWORT.

In der Einleitung zu seinem bekannten und wichtigen Werke ,,*Der Icterus*" schreibt Stadelman: ,,Der Icterus, erkennbar an der gelben ,,Verfärbung von Haut und Conjunctiva, an der Veränderung der Harn- ,,farbe, hat mit diesen seinen prägnanten und charakteristischen Er- ,,scheinungen naturgemäss das Interesse der Aerzte seit den ältesten ,,Zeiten erweckt, sodass die Wissenschaft zu Forschungen über das ,,Zustandekommen dieses auffälligen Symptomencomplexes in ganz be- ,,sonderer Weise angeregt wurde." Um so auffallender musz es erscheinen, dasz man bis auf unsre Tage einem der wesentlichsten Faktoren in diesem Symptomenkomplexe, der Ursache der gelben Hautfarbe, dem Bilirubingehalte des Blutes, so wenig Aufmerksamkeit geschenkt hat. Wenn man von einigen vereinzelten Untersuchungen absieht, hat eigentlich nur ein einziger Forscher, der französische Kliniker Gilbert, umfassende systematische Untersuchungen über den Gallenfarbstoff im Blute bei Gesunden und Kranken angestellt. Er ist dabei zu bemerkenswerten Ergebnissen gelangt; die von ihm angewandte Methode genügte aber nicht um über die Feststellung gewisser, sei es auch wichtiger, klinischer Tatsachen hinauszukommen. Wir selbst haben uns seit einigen Jahren bemüht, eine einwandfreie und für klinische Zwecke genügend genaue Methode zum Nachweiss und zur quantitativen Schätzung des Bilirubins im Blutserum und in serösen Flüssigkeiten auszuarbeiten, Ueber diese Methode und einige mit ihr angestellten Untersuchungen sollen die nachfolgenden Seiten eine Uebersicht geben. Einige der Untersuchungen sind schon früher in verschiedenen Zeitschriften veröffentlicht worden; andere, darunter eine Verbesserung der Methode, werden hier zuerst mitgeteillt. Wir hoffen durch diese Veröffentlichung zur Einführung der Bestimmung des Serumbilirubins in dazu geeigneten Fällen in die Klinik sowie zur Anwendung dieses Verfahrens bei gewissen experimentellen Forschungen beizutragen.

GRONINGEN, Dezember 1917

HIJMANS VAN DEN BERGH



INHALT.

Der Gallenfarbstoff im Blute.

EINLEITUNG.

Beim klinischen Studium des Ikterus achtete man bis vor kurzem fast ausschlieszlich darauf, ob die Haut und die sichtbaren Schleimhäute gelb gefärbt waren, ob sich im Urin Gallenfarbstoffe vorfanden oder nicht, und ob der Stuhl gefärbt oder farbfrei war. Es ist klar, dasz diese Kennzeichen nicht hinreichen können, uns einen tieferen Einblick in jene wichtige Erscheinung zu gewähren.

Die Farbe des Stuhls ist auszer von der Zufuhr von Galle noch von allerlei anderen Einflüssen abhängig. Wenn, beim Vorhandensein deutlicher anderer Zeichen von Ikterus, die Faeces nahezu ungefärbt sind oder die eigentümliche tonartige Farbe haben, dann darf man allerdings eine Behinderung des Gallenabflusses in den Zwölffingerdarm annehmen. Unter solchen Umständen ist die tonartige Farbe also ein wichtiges Zeichen. In vielen anderen Fällen aber bringt uns die Besichtigung des Stuhles nicht viel weiter. Bekanntlich können, bei übrigens deutlich erkennbarem Ikterus, die Stühle durch Zersetsungsprodukte der Galle dunkel gefärbt erscheinen. Dieses ist zum Beispiel nicht selten bei der hypertrophischen Leberzirrhose der Fall.

Auch die Untersuchung des Urins auf Gallenfarbstoffe läszt uns nur allzu oft im Stich. Wir finden zuweilen eine kurze Zeit andauernde Gallenausscheidung im Urin, ohne dasz die Haut gelb gefärbt ist. Und noch viel häufiger begegnet man einem deutlichen Hautikterus, während mittels der gebräuchlichen Untersuchungsmethoden Gallenfarbstoffe im Urin nicht nachgewiesen werden können. Diese Fälle kommen sogar so häufig vor, dasz man ihnen einen besondern Namen, acholurischen Ikterus, gegeben hat.

Vor allem aber ist die Hautfarbe ein recht unzuverlässiges Kennzeichen, wenn wir geringere Abweichungen in der Ausscheidung oder Absonderung der Gallenbestandteile erkennen wollen. An die Fälle mit starker ikterischer Verfärbung bei meist gleichzeitigem Auftreten von Bilirubin im Harn und Entfärbung der Stühle denken wir dabei nicht. Bei diesen liegt sowohl die Diagnose des Ikterus wie der Mechanismus seiner Entstehung vor der Hand. Eine Behinderung in der Entleerung der Galle in den Darm ist die Ursache, dasz diese in der Leber unter erhöhtem Druck zu stehen kommt. Sie läuft ins Blut über, sei es direkt, sei es auf einem Umwege, indem sie zuerst in die Lymphwege eindringt. Schwierigkeiten verschiedener Art bieten jedoch gewisse leichte Fälle von Gelbsucht. Die Gewebselemente werden erst dann eine gelbe Farbe annehmen, nachdem sie eine gewisse Zeit hindurch mit einem Blutplasma in Berührung gewesen sind, das die Gallenfarbstoffe in einer bestimmten, uns bis dahin nicht bekannten Konzentration enthält. Vielleicht musz sogar bei hohem Bilirubingehalt des Serums noch nicht ohne weiteres Gewebsikterus entstehen, und wird dieser nur dann zu Stande kommen, wenn besondere Stoffe den Farbstoff auf den Gewebselementen fixieren. Falls das Blutplasma nur während sehr kurzer Zeit stark bilirubinhaltig ist, wird es jedenfalls nicht zu einer Durchtränkung der Gewebselemente mit diesem Farbstoff, also nicht zu Gewebsikterus kommen. Dennoch hat dann während kurzer Zeit Ikterus bestanden, es sei denn, dasz man eine Begleiterscheinung, wie die Verfärbung der Haut, ausschlieszlich mit diesem Namen belegen wollte.

Umgekehrt halten die Gewebselemente den Farbstoff, wenn sie einmal von ihm durchtränkt sind, geraume Zeit fest. Es wird also vorkommen können, dasz die Haut ein gelbliches Aussehen zeigt, obwohl der Prozess, der den Ikterus veranlasste, bereits wieder vorüber ist.

Nicht weniger wichtig ist es, dasz sehr geringgradige Ikterusfälle gar nicht immer an der gelben Hautfarbe leicht zu erkennen sind. Jedermann weisz, dasz die Haut auch bei normalen Menschen durchaus nicht weisz ist. Sie hat eine Eigenfarbe, die bei verschiedenen Rassen, aber auch bei verschiedenen Individuen derselben Rasse, verschieden ist. Manche Menschen haben bereits in vollkommen gesundem Zustande ein gelbliches Kolorit; bei anderen tritt der gelbe Ton der Haut zu Tage, sobald

die vom Blut herrührende Farbe, welche ihn unter gewöhnlichen Umständen maskiert, beim Auftreten von Gefäszkrampf oder bei Blutlosigkeit verschwindet. Deshalb hört man Patienten auf Befragen so oft erklären, sie hätten gelb aus gesehen, obwohl sich bei genauerem Erkundigen herausstellt, dasz von Ikterus im klinischen Sinne keine Rede war. Eben darum legt man in Fällen, in denen man einen leichten Ikterus vermutet, so grossen Wert auf die Untersuchung des Urins auf Gallenfarbstoffe. Die chemische Reaktion ist ja unvergleichlich viel zuverlässiger als das Feststellen einer gelben Hautfarbe. Da die Haut des lebenden Menschen in der ärztlichen Praxis schwerlich chemisch untersucht werden kann, behilft man sich eben mit der Untersuchung des Urins.

Bei verschiedenen krankhaften Zuständen nimmt die Haut eine Farbe an, die nur schwer oder gar nicht von einer leichtikterischen Verfärbung unterschieden werden kann. Ueber diese Farbenveränderungen ist noch so gut wie nichts bekannt. Sie gehen nicht immer mit dem Vorhandensein einer abnormen Menge Farbstoffe oder dem Auftreten abnormer Farbstoffe im Blutserum einher. Ein einziges Beispiel möge genügen: in vielen Fällen chronischer interstitieller Nierenentzündung zeigt der Patient eine eigenartige, wachsbleiche Gesichtsfarbe, während das Blutserum in solchen Fällen sehr häufig gleichzeitig eine auffallend helle Farbe hat. Ebenso findet man in manchen Fällen sekundärer Anämien, namentlich bei Karzinom, ein gelbes Kolorit, das von der Hautfarbe der perniziösen Anämie kaum zu unterscheiden ist. Dennoch findet man in diesen Fällen das Blutserum auszerordentlich wenig gefärbt. [1])

Auszer der ikterischen Hautfarbe, welche durch die Imbibition der Gewebe mit Gallenfarbstoff verursacht wird, findet man nicht selten einen gelblichen, von dem ikterischen nicht immer leicht zu unterscheidenden Farbton, bei welchem im Blutserum abnorme Pigmente, oder die normalen in zu grosser Menge vorkommen.

Namentlich bei Zuckerkranken, aber auch in geringerem Masze bei anderen Personen, wie Patienten mit vorgeschrittener Arteriosklerose, fiel uns oft eine eigenartige gelbe Hautfarbe

---

[1]) Hijmans v. d. Bergh u. Snapper, Die Farbstoffe des Blutserums, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 110, 1913, S. 540.

auf. Diese Farbe war gewöhnlich etwas mehr orange als der Ikteruston, aber doch nicht stets mit Sicherheit von diesem zu unterscheiden. Dem Buche UMBER'S [1]) entnahmen wir, dasz bereits v. NOORDEN [2]) diesen gelben Ton bei Diabetikern gesehen und unter dem Namen Xanthosis diabetica beschrieben hatte. UMBER [3]), dem unsre oben angeführte Abhandlung offenbar entgangen ist, hat auf diese diabetische Xanthosis aufs neue aufmerksam gemacht. Vor kurzem hat auch MINKOWSKI, ebenfalls ohne unsre Arbeit zu kennen, einen Fall diabetischer Xanthosis beschrieben. [4]) Wir haben nachgewiesen, dasz diese orangegelbe Farbe mit dem Vorhandensein einer abnormal grossen Menge Lutein im Blutserum zusammenfällt. Wir wollen auf die Frage des Serum-Luteins, über welches Untersuchungen in unsrem Laboratorium im Gange sind, an dieser Stelle nicht eingehen. Hier interessiert es uns nur zu wissen, dasz man zuweilen Patienten begegnet, die eine leicht gelbe Hautfarbe zeigen, welche ohne Untersuchung des Blutserums nicht oder nicht mit Sicherheit von einem Ikterus zu unterscheiden ist, mögen die Sclerae in diesen Fällen auch nicht, oder nahezu nicht, gefärbt sein; diese gelbe Hautfarbe beruht auf einem abnormal hohen Luteingehalt des Blutserums.

Bei einer Reihe von Krankheiten, die mit einer starken Blutdestruktion einhergehen, findet man eine gelbe oder schmutziggelbe, manchmal eine braungelbe Verfärbung der Haut. In vielen Fällen dieser Art erklärt sich diese Hautfarbe hinlänglich aus einem hohen Bilirubingehalt des Blutserums. In anderen Fällen findet man, worauf zuerst von SCHUMM [5]) hingewiesen wurde, im Serum Haematin, zuweilen in grosser Menge. In einigen Fällen war die Farbe der Haut sehr eigenartig und der Haematingehalt sehr beträchtlich, sodasz man mit SCHUMM und SCHOTTMÜLLER [6]) von Haematinikterus reden könnte.

In mehreren Fällen von perniziöser Anaemie und in blutigen

---

[1]) F. UMBER, Ernährung und Stoffwechselkrankheiten, 2e Aufl., S. 228.

[2]) v. NOORDEN, Intern. Dermatologen-Kongress, 1904, Berlin. (nach UMBER).

[3]) UMBER, Berlin. klin. Wochenschr. 1916, No. 30.

[4]) MINKOWSKI, Berlin. klin. Wochenschr. 1917, No. 22 S. 541.

[5]) O. SCHUMM, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 80, 1912, S. 1. — Ibid. Bd. 87, 1913, S. 171. — Ibid. Bd. 97, 1916, S. 32. — Münch. mediz. Wochenschr. 1912, No. 53. — Ibid. 1914, No. 28, S. 1583. — Festschr. d. Eppendorfer Krankenhauses, S. 203.

[6]) H. SCHOTTMÜLLER, Münch. mediz. Wochenschr. 1914, No. 5.

Punktionsflüssigkeiten haben wir, in Bestätigung von SCHUMM'S Mitteilungen, ebenfalls Haematin nachweisen können. Bei einem Patienten mit perniziöser Anaemie fanden wir auszer den hier genannten Pigmenten noch einen Farbstoff im Serum, den wir nicht identifizieren konnten.

Aus all diesem folgt, dasz man aus einer gelblichen Farbe der Haut durchaus nicht immer mit Sicherheit schliessen darf, dasz eine übernormale Menge von Gallenfarbstoffen im Saftstrom zirkuliert.

Dieses ist aber gerade die Frage, die wir in vielen Fällen zu beantworten wünschen: sind bei einem Patienten zur Zeit der Untersuchung Gallenpigmente in abnormer Menge ins Blut übergetreten?

Es liegt nahe, dasz man, zur Beantwortung dieser Frage, den direkten Weg einschlägt, indem man nämlich das Blutserum auf seinen Bilirubingehalt untersucht. Zu dieser Forderung, den Bilirubingehalt des Blutserums zu bestimmen, kommt man auch, wenn man die noch nicht aufgeklärte Art des Entstehens des atypischen oder acholurischen Ikterus zu erforschen sucht.

Denn es ist klar, *dasz das Wesen des Ikterus, weder in der gelben Farbe der Gewebe, noch in dem Uebertreten der Gallenpigmente in den Urin besteht, sondern im Vorhandensein einer abnormal grossen Menge von Gallenfarbstoff im Blut.* Die Durchtränkung der Gewebe mit dem Farbstoff, die Ausscheidung desselben durch die Nieren sind Folgeerscheinungen. Die Verhältnisse sind hier dieselben wie beim Diabetes, bei welchem nicht die Glycosurie, sondern der abnorm hohe Blutzuckergehalt den Mittelpunkt aller anderer Erscheinungen bildet.

Sowohl praktisch-klinischer Gründe wegen, als auch zwecks Erlangung einer tieferen Einsicht in die Pathologie des Ikterus, ist es also notwendig, das Blutserum der Patienten einer Untersuchung auf Gallenpigmente und andere Farbstoffe zu unterziehen.

Diese Forderung wurde bereits verschiedentlich von anderen Autoren geäuszert. [1]) In die Klinik hat die Untersuchung des Serums auf Bilirubin bisher jedoch nur wenig Eingang gefunden.

---

[1]) S. z. Beisp.: HAMEL, Deutsch. med. Wochenschr., 1902, N⁰ 39, S. 702. BOUMA, Ibid. 1902, N⁰. 48, S. 866 und 1904, N⁰. 24, S. 881.

Ueber einige einschlägige Arbeiten werden wir in der Folge zu sprechen haben. Schon an dieser Stelle aber musz die Arbeit des französischen Klinikers GILBERT [1]) erwähnt werden, der mit seinen Schülern dem Bilirubingehalt des Blutserums zahlreiche wichtige klinische Abhandlungen gewidmet hat.

In einem Aufsatz ,,Die Farbstoffe des Blutserums'' haben wir auf die Bedeutung, welche einer systematischen Untersuchung der Farbstoffe des menschlichen Blutserums zukommt, hingewiesen. [2])

---

[1]) Siehe S. 11 u. folg.

[2]) HIJMANS V. D. BERGH u. SNAPPER, Deutsch. Arch. f. kl. Mediz., Bd. 110, 1913.

I. KAPITEL.

Eine Methode Bilirubin in eiweiszreichen Flüssigkeiten nachzuweisen und quantitativ zu schätzen.

§ 1. *Der Nachweis von Spuren von Gallenfarbstoff in eiweiszreichen Flüssigkeiten.*

Für unsern Zweck mussten wir über ein Verfahren verfügen, das uns in den Stand setzte, geringe Spuren von Gallenfarbstoff in eiweiszreichen Flüssigkeiten mit Sicherheit nachzuweisen.

In der Literatur finden wir verschiedene einschlägige Methoden angegeben.

Hammarsten [1]) macht das Serum mittels Essigsäure schwach sauer. Nach 24 Stunden verdünnt er mit 10—15 Vol. Wasser. Es bildet sich ein Niederschlag von Serumglobulin, aus welchem er den Gallenfarbstoff extrahiert und schlieszlich in Chloroform bringt. Aus diesem läszt er das Pigment herauskristallisieren. Auf diese Weise geht aber immerhin, wie auch der Verfasser selbst zugibt, viel Bilirubin verloren. Zum Nachweis von Spuren von Bilirubin, zumal in kleineren Flüssigkeitsmengen, ist diese Methode, abgesehen von ihrer Umständlichkeit, ganz und gar ungeeignet. Hammarsten konnte denn auch diesen Farbstoff wohl in dem bilirubinreichen Pferdeserum, nicht aber im normalen menschlichen Serum nachweisen, welches — wie wir später ausführen werden — dennoch Bilirubin, wenn auch nur in geringer Menge, enthält.

Die von den meisten anderen Forschern angewandte Methode besteht darin, dasz man das Bilirubin der Einwirkung oxydierender Reagenzien aussetzt (alkoholischer Jodlösung, Eisenchlorid, Natriumritrit, oder einfach Erwärmung an der Luft). Einige Untersucher nehmen die Reaktion direkt mit dem

---

1) Hammarsten, Maly's Jahresber. 8, 1878, S. 129.

Serum vor, andere mit einem Filtrat, nach vorherigem Fällen des Eiweiszes mittelst 2 Vol. Alkohol, andere wieder an einem Niederschlag, der durch Aussalzen des Serums gewonnen wurde, oder mit einer Lösung von einem durch Aussalzen erhaltenen Präzipitat.

Schlieszlich hat man auch das Serum mit Chloroform ausgeschüttelt, die Flüssigkeiten im Scheidetrichter geschieden, und mit der chloroformigen Lösung weiter gearbeitet. Durch diese oxydierenden Reagenzien entstehen grün oder blau gefärbte Oxydationsprodukte, aus deren Vorhandensein man auf die Anwesenheit von Bilirubin schlieszt [1]).

Beim Anwenden dieser Methoden stellte sich bald heraus, dasz sie für unseren Zweck unbrauchbar sind:

1. Weil sie nicht empfindlich genug sind oder wenigstens dort, wo es auf sehr geringe Spuren ankommt, nicht mit Sicherheit zu entscheiden gestatten, ob Gallenfarbstoff im Serum vorhanden ist oder nicht.

2. Weil man nicht mit Bestimmtheit annehmen darf, dasz solche grüne oder blaue Stoffe notwendigerweise aus Bilirubin entstanden sind. Es wäre möglich, dasz auch andere Stoffe unter dem Einflusz der benutzten Reagenzien gleichfarbige Produkte hervorbrächten.

Eine gute Methode rührt von AUCHÉ her [2]). Zu 5 cm^3 einer alkoholischen Bilirubinlösung setzt man eine Spur Ammoniak; darauf fügt man ein paar Tropfen einer 1 : 1000 Lösung von Zinkazetat in Alkohol und einen oder mehrere Tropfen (so viele, wie nötig sind) einer 1 pct. alkoholischen Jodlösung zu. Schlieszlich fügt man noch Ammoniak im Uebermasz hinzu. Die Flüssigkeit nimmt eine grün-blaue Farbe an und zeigt ein Absorptionsband zwischen B und C. Konzentrierte Lösungen zeigen noch ein zweites schwächeres Band bei D.

Diese Methode kann zur Kontrolle beim Nachweis von Gallenfarbstoffen gute Dienste leisten. Nach AUCHÉ ist sie sehr empfindlich, und ermöglicht in den meisten normalen menschlichen

---

[1]) Eine gute Literatur-Uebersicht über die Methodik zum Nachweis kleinster Gallenfarbstoffmengen in Blutserum und Harn gibt A. POSSELT, Zentralblatt f. innere Mediz. 1907, N⁰. 20.

[2]) A. AUCHÉ, Compt. rend. Soc. Biol., Bd. 64, 1908, 297 und 299. Derselbe, Ibid., Bd. 67.

Sera den Nachweis von Bilirubin. Man musz aber dazu oft in einer Schicht von 10 cm spektroskopieren. Hieraus folgt, dasz man von einer ziemlich grossen Menge Blut ausgehen musz. Auch ist es nicht leicht, diese Reaktion so auszuführen, dasz sie auf einfache Weise eine quantitative Schätzung zuläszt. Um dieser beiden Gründe willen haben wir diese Methode nur zuweilen, nicht aber regelmäszig zur Anwendung gebracht.

Eine Methode, die all unsern Anforderungen genügte, fanden wir in der zuerst von EHRLICH [1]) gefundenen Diazoreaktion. Diese ist von PRÖSCHER [2]) und von ORNDORFF und TEEPLE [3]) genauer studiert worden. In den Lehrbüchern der physiologischen Chemie wird sie zwar erwähnt (z.B. in dem Lehrbuch von HAMMARSTEN), aber, so viel ich weisz, hat man sich ihrer bis vor kurzem weder im klinischen Laboratorium zu diagnostischen Zwecken noch zu anderen Untersuchungen bedient.

Setzt man zu einer alkoholischen Bilirubinlösung eine kleine Menge Diazoniumsalz in saurer Lösung zu, so tritt Kuppelung ein mit Bildung eines Azofarbstoffes. Dieses Azobilirubin hat PRÖSCHER in reinem Zustand darstellen können. ORNDORFF und TEEPLE wiesen nach, dasz zwei Azostoffe entstehen können, ein Monazo- und ein Disazobilirubin, je nachdem 1 oder 2 Mol. Diazoniumsalz durch 1 Mol. Bilirubin gebunden werden. Eine wichtige Eigenschaft des Azobilirubins besteht darin, dasz es, in neutraler oder fast neutraler Lösung schön rot gefärbt, nach Zusatz von Salzsäure eine blau-violette Farbe annimmt, während die Lösung sich bei Zusatz einiger Tropfen starker Natronlauge grünblau färbt. Diese verschiedenen Lösungen haben ein charakteristisches Spektrum, welches von FORMANEK [4]) untersucht wurde.

Wir machten die Erfahrung, dasz diese Reaktion auszergewöhnlich geeignet ist, Spuren von Bilirubin im Blutserum nachzuweisen. Sie erfordert wenig Zeit und ist höchst einfach; sie ist auszerordentlich empfindlich und zeigt Bilirubin mit Sicherheit an.

Was die Empfindlichkeit angeht, so kann man sich leicht

---

[1]) P. EHRLICH, Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 23, 1883, S. 275.
[2]) PRÖSCHER, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 29, 1900, S. 411.
[3]) ORNDORFF and TEEPLE, Festschr. f. SALKOWSKI, Berlin 1904, S. 305.
[4]) FORMANEK, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 29, 1900, S. 414.

davon überzeugen, dasz chemisch reines Bilirubin noch in einer Lösung von 1 : 1.5 Million ohne Mühe und ohne Vorübung nachgewiesen werden kann.

Die Methode ist darum so zuverlässig, weil fast keine anderen Körper als das Bilirubin im Stande sind mit Diazoniumsalzen in stark mineralsaurem Milieu zu kuppeln; namentlich aber wegen der Farbenveränderung, die das Azobilirubin aufweist, je nachdem man die Reaktion neutral, sauer oder alkalisch macht.

Es versteht sich von selbst, dasz man für die Reaktion jedes Diazoniumsalz gebrauchen kann. Wir haben uns stets der von Ehrlich selbst angegebenen Diazosulfonsäure bedient, welche jedesmal kurz vor Gebrauch frisch bereitet wurde: zu 25 cm^3 einer Mischung, welche pro Liter 1 grm Sulfanilsäure und 15 cm^3 Salzsäure enthält, fügt man $\frac{3}{4}$ cm^3 einer 0.5% Natriumnitritlösung. Die Diazoniumlösung darf kein Uebermasz von salpetriger Säure enthalten, was sich mittels Jodkalium-Stärke kontrollieren läszt (es soll keine direkte Blaufärbung auftreten).

Die Reaktion wird nun folgendermaszen ausgeführt.

Zu einem Volum klares Blutserum fügt man 2 Teile 96% Alkohol; der Eiweiszniederschlag wird abzentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abpipettiert. Zu 1 Teil der klaren alkoholischen Flüssigkeit fügt man einen vierten Teil Diazoniumlösung. War Bilirubin vorhanden, so nimmt die alkoholische Flüssigkeit sogleich eine schön rote, etwas violett getönte Farbe an.

Zuweilen kommt es vor, dasz die alkoholische Lösung ein wenig trüb ist. Diese Trübung wird durch Fettsäuren verursacht, die infolge des Verdünnens des Alkohols durch die wässerige Diazoniumlösung, bei Zimmertemperatur ausfallen und einen Niederschlag bilden. Die Trübung entfernt man durch Erwärmung oder — was besser ist — durch Zusatz von 1 bis 2 Tropfen Aether, oder $\frac{1}{2}$ Vol. Alkohol.

Um sicher zu sein, dasz es sich um Bilirubin handelt, setzt man einer Portion der gefärbten Flüssigkeit ein paar Tropfen starker Salzsäure zu: die Farbe wird dann blau; einer anderen Portion setzt man einen Tropfen starker Natronlauge zu: die Farbe wird dann blaugrün. Falls man es für wünschenswert hält, überzeugt man sich davon, dasz die saure Lösung bei spektroskopischer Betrachtung ein Absorptionsband bei 540—610$\mu\mu$, die alkalische Lösung ein solches bei 550—630$\mu\mu$ gibt.

Auszer den genannten Vorzügen einfacher und schneller

Ausführbarkeit, scharfen Farbenwechsels, groszer Empfindlichkeit und groszer Zuverlässigkeit — bietet diese Reaktion für klinische Zwecke den groszen Vorteil, dasz man nur sehr wenig Blut braucht. Hat man 0.5 cm^3 klaren Serums, so ist das für diese Bestimmung vollauf ausreichend. Im Notfall kommt man sogar mit $\frac{1}{4}$ cm^3 aus. Das dazu erforderliche Blut kann man fast immer bei einiger Uebung bequem durch einen kleinen Stich in den Finger erhalten, namentlich wenn man die Hand des Patienten einige Augenblicke zuvor in recht warmes Wasser halten läszt. Auf diese Weise wird Venenpunktion überflüssig, was ein groszer Vorzug ist, falls bei ein und demselben Patienten wiederholte Bestimmungen vorgenommen werden müssen.

Von allen bis dahin untersuchten Gallenpigmenten gibt nur — wie Ehrlich fand — das Bilirubin die Kuppelung mit Diazoniumsalzen. Die Oxydationsprodukte, das Biliverdin und die übrigen Substanzen, die aus dem Gallenfarbstoff hervorgehen, geben diese Reaktion nicht. Hieraus folgt, dasz man auf dem hier beschriebenen Wege lediglich im Stande ist das unveränderte Bilirubin nachzuweisen.

Wir fanden, dasz die erste Oxydationsstufe des Bilirubins — das Biliprasin von Dastre und Floresco [1]) — in gleicher Weise wie das ursprüngliche Gallenpigment zur Kuppelung fähig ist.

---

§ 2. *Eine quantitative Schätzung der Bilirubinmenge in kleinen Mengen eiweiszreicher Flüssigkeiten.*

Wir haben gefunden, dasz die oben beschriebene Methode sehr bequem für die quantitative Schätzung des Gallenfarbstoffes in eiweiszreichen Flüssigkeiten nutzbar gemacht werden kann. Dieses kam uns um so mehr zu statten, als die bis dahin angewandten Methoden zur quantitativen Bestimmung des Bilirubins im Blut, wie uns scheint, für die Klinik unbrauchbar sind.

---

[1]) Dastre et Floresco, Recherches sur les matières colorantes du foie et de la bile, Paris, 1899.

Einige der besten dieser Methoden mögen hier eine ganz kurze Besprechung finden.

Man hat versucht das Gallenpigment auf spektrophotometrischem Wege zu bestimmen. Man hat es direkt getan, indem man die Lichtabsorption der den Gallenfarbstoff enthaltenden Flüssigkeit ohne weitere Vorbereitung zu bestimmen suchte. Die meisten Forscher aber haben vorher den Farbstoff in einen solchen verwandelt, der ein charakteristisches Absorptionsspektrum zeigt.

Die erstgenannte Methode erscheint uns nicht statthaft. Wie bekannt gibt der Gallenfarbstoff keine Absorptionsstreifen, sondern eine diffuse Verdunklung des rechten Teiles des Spektrums. Da nun bereits im normalen Serum noch andere Farbstoffe vorkommen, und solches in pathologischen Fällen noch in höherem Masze der Fall sein kann (Oxyhaemoglobin und Methaemoglobin, Haematin, Lutein), ist es nicht möglich, auf spektrophotometrischem Wege in einfacher Weise das Gallenpigment quantitativ zu bestimmen.

Ungeeignet erwies sich für unsern Zweck auch die von v. Fürth [1]) beschriebene Methode, deren sich auch Medak und Pribram [2]) bedienten. Das Verfahren besteht darin, dasz der Gallenfarbstoff in Biliverdin umgewandelt und dieses in alkalischer Lösung bestimmt wird. Die Umwandlung des Bilirubins in Biliverdin wird durch Kochen mit 10 proz. Natronlauge erreicht. Während v. Fürth die Bestimmung auf kolorimetrischem Wege ausführte, erhielten die beiden letzteren Autoren damit keine befriedigenden Resultate und raten nur die spektrophotometrische Methode zu benutzen, was das Verfahren allerdings schon bedeutend langwieriger und für klinische Untersuchungen fast unbrauchbar macht. Ein prinzipielles Bedenken gegen diese Methode ist aber die Ungewiszheit, dasz durch das Kochen während einer bestimmten Zeit wirklich alles Bilirubin quantitativ in Biliverdin umgewandelt werde. Das haben auch Medak und Pribram erfahren: wärend Czylarz, Fuchs und v. Fürth in ihrer Vorschrift eine halbe Stunde Kochzeit als genügend angeben, sind nach den Erfahrungen von Medak und Pribram dazu 1 bis 1½ Stunde nötig. Wir begeg-

---

[1]) Czylarz, Fuchs und v. Fürth, Biochem. Zeitschr. Bd. 49, 1913, S. 120.

[2]) E. Medak und B. O. Pribram, Berlin. klin. Wochenschr., 1915, No. 27.

neten Bilirubin haltenden Sera (z. B. von Patienten mit perniziöser Anaemie), die nach Kochen mit der Lauge während 2 Stunden ihre Farbe noch kaum merkbar geändert hatten. Sera von Patienten mit Stauungsikterus wurden hingegen unter dieser Behandlung in viel kürzerer Zeit grün. Ueber weitere Differenzen zwischen diesen beiden Arten von Sera wird unten noch die Rede sein.

Anfangs glaubten wir, dasz für unsern Zweck die Methode von Gilbert [1]) in besonderem Masze geeignet sein würde.

Diese Methode beruht auf folgendem Prinzip: Wenn man in ein Reagenzgläschen Salpetersäure gieszt, welche etwas salpetrige Säure enthält, und man läszt dann vorsichtig auf die Oberfläche der Säure Blutserum hinunterflieszen, so bemerkt man, dasz das Eiweisz des Serums von unten nach oben gerinnt. Es bildet sich ein scheibenförmiges Gerinnsel, das zuerst weisz aussieht, dann in seinem untersten Teile schnell gelb wird. Enthielt das Serum Bilirubin, so erscheint nach einiger Zeit, etwa $\frac{1}{2}$ Stunde, über dem gelben Teile ein Ring von blauer Farbe mit grünlichem Schimmer. Dieser blaue Ring, den Hayem [2]) zuerst beschrieben hat, soll nach Ansicht der französischen Forscher ausschlieszlich durch Gallenpigmente hervorgebracht werden. Ist das Serum sehr reich an Gallenfarbstoffen, dann kann nicht nur der blaue Ring, sondern das bekannte Farbenspiel der Gmelin'schen Reaktion zur Beobachtung kommen. Um diese Reaktion für quantitative Bestimmungen nutzbar zu machen, haben Gilbert und seine Schüler untersucht, welche kleinste Menge Bilirubin den blauen Ring noch gerade entstehen läszt. Da aber das Erscheinen des blauen Ringes von mehreren Faktoren beeinfluszt wird, musz bei der Ausführung dieser Bestimmungen immer genau die gleiche Technik eingehalten werden. In Reagenzgläschen von 1 cm Durchmesser wurden je

---

[1]) Für die Einzelheiten bei der Ausführung der Methode Gilbert's siehe: Gilbert, Herscher et Posternak, Sur un procédé de dosage de la bilirubine dans le sérum sanguin (cholémimétrie), C. Rend. Soc. Biol. Bd. 55, 1903, S. 1587.

Dieselben, Présentation d'un appareil pour doser la bilirubine dans le sérum sanguin (cholémimètre), ibid. 56, 1904, S. 700.

L. Stankéwitch, Cholémimétrie, Thèse de Paris, 1904.

[2]) Hayem, Du sang et de ses altérations pathologiques, Paris 1887.

Derselbe, Leçons sur les maladies du sang, Paris 1900.

$\frac{1}{4}$ cm³ Reagenz mit $\frac{1}{2}$ cm³ einer künstlichen Eiweiszlösung, welcher Bilirubin in steigender Menge zugesetzt worden war, zusammengebracht. †) Die Autoren fanden nun den Grenzwert, bei welchem der blaue Ring gerade noch wahrgenommen werden konnte, in einer Eiweiszlösung, welche Bilirubin in einer Verdünnung von 1 : 40.000 enthielt.

Um nun den Bilirubingehalt eines natürlichen Serums zu bestimmen, verdünnten GILBERT, HERSCHER und POSTERNAK dieses mit steigenden Mengen der künstlichen Eiweiszlösung. In eine Reihe Reagenzgläschen gieszt man je $\frac{1}{2}$ cm³ des genannten Salpetersäure-Reagenzes und schichtet dann vorsichtig darauf je $\frac{1}{4}$ cm³ der verschiedenen Verdünnungen. Man bestimmt, in welchem der Gläschen zuerst der blaue Ring erscheint. Da man weisz, dasz in dieser Serumverdünnung der Bilirubingehalt 1 : 40.000 beträgt, und ferner der Grad der Verdünnung bekannt ist, kann man den Bilirubingehalt des ursprünglichen Serums leicht berechnen. Auszer von GILBERT und seinen Schülern ist diese Methode von OLAF SCHEEL (Christiania) [1]) und in Holland von HANNEMA [2]) angewandt worden.

Gegen diese Methode können verschiedene Bedenken geltend gemacht werden.

Zunächst hat man dagegen eingewendet, dasz infolge der Einwirkung einer salpetrige Säure enthaltenden Salpetersäure nicht nur das Bilirubin des Blutserums, sondern auch andere Stoffe das Entstehen eines blauen Ringes veranlassen könnten. Nach ZOJA [3]) und DASTRE und FLORESCO [4]) ist diese Reaktion sogar ganz allein dem Lutein des Serums zuzuschreiben.

GILBERT [5]) bestreitet diese Behauptung und glaubt annehmen

†) Die Eiweiszlösung wurde vorsichtig mittels einer feinen Pipette auf das Salpetersäure-Reagenz geschichtet. Das letztere wird bereitet, indem man 200 cm³ einer 36 pc. Salpetersäure mit 100 cm³ dest. Wasser vermischt und der Lösung 60 mgr Natriumnitrit zusetzt. Die Eiweiszlösung wird hergestellt aus gleichen Teilen Eierklar und 1.5 pc. Kochsalzlösung, welchem Gemisch soviel KOH zugesetzt wird, dasz der Gehalt 5 : 1000 beträgt. Man läszt es ein oder zwei Tage stehen, und hebt die klare überstehende Flüssigkeit ab.

[1]) OLAF SCHEEL, Zeitschr. f. klin. Mediz., 1912.

[2]) HANNEMA, Ned. Tijdschr. v. Geneesk., 1915, I, No. 26, blz. 2240.

[3]) ZOJA, zitiert nach POSSELT, loc. cit.

[4]) DASTRE et FLORESCO, C. Rend. Soc. Biol. Bd. 50, 1898, S. 77.

[5]) GILBERT et HERSCHER, Cholémie physiologique, Presse médicale 1906, No. 26.

zu dürfen, dasz im menschlichen Serum kein Lutein vorkomme. Beide Annahmen sind aber unrichtig, denn im menschlichen Serum kommen, wie wir weiter sehen werden, sowohl Bilirubin als auch Lutein vor, sei es auch in individuell sehr verschiedenen Mengen. An der Reaktion sind beide Stoffe beteiligt. Weil das Bilirubin eine intensivere Reaktion veranlaszt als das Lutein, wird der Anteil des Luteins im Zustandekommen des blauen Ringes nur von Bedeutung sein bei einem starken Luteingehalt neben wenig Bilirubin. Ein im voraus schwer abzuschätzender Fehler wird indessen bei diesem Verfahren durch das Lutein unzweifelhaft veranlaszt werden. Das wird durch die folgende Erfahrung erläutert: wenn man die Reaktion mit Rinderserum, das gewöhnlich sehr wenig Bilirubin aber viel Lutein enthält, ausführt, bekommt man immer einen sei es auch schwach blauen Ring zu sehen. Verschiedene Male untersuchten wir Rindersera, in denen mit den empfindlichsten Methoden nur die geringste Spur Bilirubin nachzuweisen war, gewisz viel zu wenig um die GMELIN'sche Reaktion zu geben, während der Luteingehalt bedeutend war; auch in diesen Fällen erhielten wir eine positive Reaktion.

Vor allem musz aber ein prinzipielles Bedenken gegen die Methode GILBERT's geltend gemacht werden, das darin besteht, dasz sie auf der Wahrnehmung des schwächsten, noch gerade sichtbaren Ringes beruht. Es ist klar, dasz die Wahrnehmung einer so subtilen Erscheinung von vielen Faktoren abhängig sein musz: von der Weite des Gläschens, von der Beleuchtung, von der Beobachtungsweise, vielleicht von der Zusammensetzung der zu untersuchenden Flüssigkeit (Art des Eiweiszsystems), namentlich aber vom Auge des Beobachters. Der eine wird noch keinen blauen Ring sehen, wo der andere ihn bereits wahrzunehmen glaubt. Uebung wird selbstverständlich eine grosze Rolle spielen, und jedenfalls ist ein stark subjektiver Faktor im Spiel. Nur so ist es zu erklären, dasz GILBERT und HERSCHER und ihre Mitarbeiter die Grenzkonzentration, bei welcher der Ring zum ersten Mal gesehen wird, erst bei einer Bilirubinlösung von 1 : 40000 finden, während HANNEMA ihn bereits bei einer Lösung von 1 : 150000 sieht. Dieser Unterschied ist so grosz, dasz durch ihn, unserer Ansicht nach, die Methode verurteilt wird. Nehmen wir an, dasz der von HANNEMA angegebene Wert als richtig angesehen

werden musz, dann folgt daraus, dasz auf diese Weise das Bilirubin im Serum der meisten normalen Menschen nicht nachgewiesen werden kann, während doch, wie wir später sehen werden, jedes menschliche Serum Bilirubin enthält. In der Tat ist denn auch HANNEMA zu dem unrichtigen Schlusz gelangt, dasz das normale menschliche Serum kein Bilirubin enthalte.

Schlieszlich versteht es sich von selbst, dasz die Methode unbrauchbar ist, wenn sich neben dem Bilirubin im Serum noch andere Pigmente, wie Haematin, Haemoglobin, um das Lutein weiter auf sich beruhen zu lassen, in einigermaszen grösserer Menge vorfinden.

Aus allen diesen Gründen muszten wir das Verfahren GILBERTS's für unsere Zwecke als wenig geeignet betrachten und kamen wir dazu, die oben beschriebene Azoreaktion zu einer quantitativen kolorimetrischen Methode auszuarbeiten.

Dazu war es nötig, eine Stammflüssigkeit herzustellen, mit welcher wir das zu untersuchende Serum, nachdem die Reaktion damit ausgeführt worden war, vergleichen konnten. Die nicht genügende Dauerhaftigkeit der Farbe der Azobilirubinlösung nötigte uns diese vor jeder Bestimmung, oder wenigstens jeden Tag, frisch zu bereiten, indem wir zu einer alkoholischen Bilirubinlösung von bekanntem Gehalt die erforderliche Menge Diazonium-lösung hinzufügten. Aber auch eine alkoholische Bilirubinlösung ist sehr wenig haltbar und geht sehr bald zu einem Teil in Biliverdin über. Andrerseits ist es zu zeitraubend und zu kostspielig, für jede Bestimmung die benötigte Menge Bilirubin abzuwiegen und aufzulösen. Deshalb haben wir auf einem Umwege versucht eine haltbare Stammlösung darzustellen und kamen dabei zu folgendem Verfahren.

1. Ursprüngliche Herstellung der Vergleichsflüssigkeit.

Ursprünglich gingen wir auf folgende Weise vor:

Von einer Stammlösung von 5 mgr. reinem Bilirubin (von SCHUCHARD) in 100 cm³ Chloroform wurde 1 cm³ sorgfältig abgemessen und das Chloroform auf dem Wasserbad abge-

dampft. Die Chloroformlösung des Bilirubins ist einige Zeit haltbar und der Farbstoff ändert sich — so meinten wir anfangs — durch die Erwärmung auf dem Wasserbade nicht.

Zu dem Rückstand der eingedampften Lösung von Bilirubin in Chloroform wurden 10 cm³ einer alkoholischen Natriumbicarbonatlösung [1]) hinzugefügt, wodurch also eine Bilirubinlösung (in Gestalt eines Bilirubinats) von 1 : 200000 entstand. [2])

Zu 10 cm³ dieser 1/200.000 alkoholischen Bilirubinlösung wurden 2½ cm³ des Reagenz von Ehrlich hinzugefügt.

Mit dieser Flüssigkeit wurde das zu untersuchende Serum in irgend einem Kolorimeter (z.B. dem Instrument von Autenrieth) verglichen.

Seit einiger Zeit benutzen wir jedoch eine andere Vergleichsflüssigkeit, als die ursprünglich von uns angewandte und soeben beschriebene. Es hat sich nämlich herausgestellt, dass die Lösung von Bilirubin in Chloroform sich nicht immer gleich gut hält. Vielleicht ist es Unreinlichkeiten des Chloroforms zuzuschreiben, vielleicht auch dem Einflusz des Lichtes, jedenfalls ist es eine Tatsache, dasz unsre Stammlösung in der letzten Zeit schon nach einigen Tagen eine grüne Farbe annahm, was beweist, dasz ein Teil des Bilirubins sich in Biliverdin verwandelt hatte. Sobald die Vergleichsflüssigkeit sich verändert, werden aber, wie sich von selbst versteht, unberechenbare Fehler gemacht. Um diese zu vermeiden, wäre es

---

[1]) Diese Lösung hatte folgende Zusammensetzung: 3 gr. NaCl, 0.6 gr. $NaHCO_3$ auf 1 Liter 70 pc. Alkohol. Wir hatten die Zusammensetzung der Flüssigkeit so gewählt, um die Konzentration der Salze sowie des Alkohols in der Vergleichsflüssigkeit so viel wie möglich derjenigen Lösung, welche durch die Hinzufügung von 2 Vol. 96 % Alkohol zu 1 Vol. Serum entsteht, ähnlich zu gestalten.

[2]) Bemerkung zur zweiten Auflage.

Man hat die Bemerkung gemacht, dasz Bilirubin — folglich auch der Rückstand der eingedampften Lösung von Bilirubin in Chloroform — in einer alkoholischen Natriumbicarbonatlösung unlöslich sei. Das ist richtig. Bei der Ausführung der Methode geschieht aber Folgendes: Nachdem die bilirubinhaltige Chloroformlösung eingedampft ist, hat sich immer ein klein wenig Chloroformdampf an der Wand des Gefäszes kondensiert. Diese Spur Chloroform löst das Bilirubin, mischt sich mit der alkoholischen Natriumbicarbonatlösung und genügt um das Bilirubin im Alkohol in Lösung zu halten.

also nötig, wiederholt frische Lösungen zu bereiten. Das Bilirubin ist aber sehr teuer, sodasz man gezwungen ist nur kleine Mengen, einzelne Milligramme, auf einmal abzuwiegen; das kostet viel Zeit, wenn es sorgfältig geschehen soll.

Deshalb suchten wir nach einer Vergleichsflüssigkeit, welche zu jeder Zeit bequem und in einer genau bekannten Konzentration herzustellen wäre, und deren Farbe mit derjenigen der alkoholischen Lösung des Azobilirubins vollkommen übereinstimmte. Wir waren so glücklich in einer Lösung von Rhodaneisen in Aether eine solche zu finden.

2. Verbesserte Vergleichsflüssigkeit.

Eine Lösung von Ferrirhodanid in Aether von 1 : 32000 normal hat die gleiche Farbe wie eine Azobilirubinlösung von 1 : 200.000. Als Vorrat dienen eine Stammflüssigkeit von Ferrisalz von 1/8000 normal und eine 10% Rhodanidlösung.

Die Ferrilösung wird in folgender Weise hergestellt:

0.1508 grm. chemisch reines Ammoniakeisenalaun werden in 50 cm^3 starker Salzsäure gelöst; man fügt Wasser zu bis 100 cm^3.

Diese Lösung (= $\frac{1}{320}$ normal) ist unbegrenzt haltbar.

10 cm^3 dieser Lösung werden mit 25 cm^3 starker Salzsäure versetzt, darauf destilliertes Wasser zugefügt bis 250 cm^3. Man hat dann eine $\frac{1}{8000}$ n. Lösung, welche einige Monate (nicht unbegrenzt) haltbar ist.

Zu 3 cm^3 der Ferrilösung fügt man ebensoviel Rhodanid und 12 cm^3 Aether. Nachdem man das ganze durchgeschüttelt hat, wird der Aether, der die ganze Menge Ferri-Rhodanid aufgenommen hat, in den Keil des Kolorimeters hinübergebracht. Auf Verdampfung des Aethers wird natürlich genau geachtet.

Bei Benutzung dieser Stammlösung müssen die Mengen der Diazoniumlösung, welche der Flüssigkeit zugesetzt wurden, natürlich in die Rechnung eingestellt werden.

Diese Vergleichsflüssigkeit (den gefärbten Aether), die man zu jeder Zeit in wenigen Augenblicken bereiten kann, wenn man die Lösungen von Ferrisalz und von Rhodanammonium vorrätig hält, gebrauchen wir seit einiger Zeit ausschlieszlich bei unseren Bilirubinbestimmungen.

2*a*.[1]) Die neueste Vergleichsflüssigkeit.

Seit mehreren Jahren haben wir diese Standardflüssigkeit nicht mehr benutzt, sondern die folgende einfache Vergleichsflüssigkeit in Anwendung gebracht.

2 gr. wasserfreies Kobaltsulfat werden in 100 cm³ destilliertem Wasser gelöst. Das wasserfreie Kobaltsulfat wird dargestellt, entweder indem man reines (nickelfreies) Kobaltsulfat bis zu schwachem Rotglut erhitzt oder das Kobaltchlorid oder -nitrat mit starker Schwefelsäure abraucht.

3. Ausführung der Reaktion im Blutserum.

In ein kleines Zentrifugalröhrchen bringt man zuerst 2 cm³ 96 pc. Alkohol, darauf 1 cm³ klares Serum. Nachdem das Röhrchen in einer schnell rotierenden Zentrifuge gedreht worden ist, bringt man von der überstehenden Flüssigkeit 2 cm³ in das Röhrchen des Autenrieth'schen Kolorimeters. Alsdann fügt man 0.25 cm³ des Reagenz von Ehrlich hinzu, wartet einen Augenblick und liest ab. Sollte die Flüssigkeit getrübt erscheinen, dann fügt man 0.5 cm³ Alkohol hinzu. Die durch Fettsäuren verursachte Trübung verschwindet auf diese Weise. Sollte aber die Farbe der untersuchten Lösung intensiver sein als diejenige der Vergleichsflüssigkeit, so wäre es notwendig, das Serum vorher zu verdünnen.

Die Berechnung ergibt sich aus folgenden Betrachtungen:

1 cm³ Serum wurde mit 2 cm³ Alkohol gefällt. In Folge der Kontraktion resultiert hieraus ein Volumen von $\frac{20}{7}$ cm³, das Volumen des Präzipitats mitgerechnet. Da das Volum des Eiweiszpräzipitats, wenn es vollständig von Serum befreit wäre, so gering ist, dasz es vernachlässigt werden darf, nehmen wir an, dasz sich das Bilirubin des 1 cm³ Serum über die $\frac{20}{7}$ cm³ verteilt hat, also $\frac{20}{7}$ mal verdünnt wurde.

Zu 2 cm³ dieser Lösung fügt man 0.5 cm³ Alkohol und 0.25 cm³ Reagenz. Die letztere Flüssigkeit ist also von 2 cm³ auf 2.75 cm³ gebracht, also $\frac{11}{8}$ mal verdünnt.

---

[1]) In der zweiten Auflage hinzugefügt.

Die ganze Verdünnung des 1 cm^3 Serum, womit wir anfingen, beträgt also $\frac{20}{7} \times \frac{11}{8} = 4$.

Bei Verwendung der Eisenrhodanidlösung in Aether ist die Berechnung also sehr einfach: Die Vergleichsflüssigkeit wird in den Keil des AUTENRIETH'schen Kolorimeters gebracht; es wird abgelesen und die erhaltene Verhältniszahl mit 4 multipliziert (und, wenn das Serum zuvor mit Wasser verdünnt wäre, noch mit dieser Verdünnungszahl). Der zuletzt gefundene Wert sagt aus wie viel mal das Serum $\frac{1}{200000}$en Teil Bilirubin enthält.

Es wäre jetzt an der Zeit, die Fehler zu besprechen, welche der Methode anhaften könnten und zu überlegen, inwieweit das Verfahren Vertrauen verdient. Das kann aber erst mit Nutzen geschehen, nachdem wir verschiedene Tatsachen betreffs des Bilirubins kennen gelernt haben werden. Eine Kritik der von uns angewandten Methode musz deshalb einem späteren Kapitel vorbehalten bleiben.

II. KAPITEL.

Ueber das Vorkommen von Bilirubin im normalen Blutserum, in Transsudaten und Exsudaten.

---

§ 3. *Ueber das Vorkommen von Bilirubin im normalen Blutserum, in Transsudaten und Exsudaten beim Menschen.*

Verschiedene Autoren — es seien nur genannt: AUCHÉ, OBERMAYER und POPPER [1]), LEHNDORFF [2]) und namentlich GILBERT [3]) — haben mit den von ihnen beschriebenen empfindlichen Methoden Spuren von Gallenfarbstoff im normalen Menschenserum nachweisen können. Jedoch hatte die Auffassung der genannten Autoren nicht allgemein Eingang finden können, oder es hatten ihre Ausführungen jedenfalls nicht zu weiteren Untersuchungen veranlaszt. Daher kommt es, dasz man bis 1918 an verschiedenen Stellen noch immer angegeben fand, normales menschliches Blutserum enthalte kein Bilirubin. Ohne Zweifel hat zu dieser irrigen Meinung auch die Autorität HAMMERSTEN's [4]), der im Serum gesunder Menschen keine Gallenfarbstoffe vorfand, beigetragen. Man übersah dabei, dasz, wie HAMMARSTEN selbst hervorhob, bei den verschiedenen Vorgängen des von ihm angegebenen Verfahrens viel Bilirubin verloren geht, sodasz sehr kleine Mengen sich notwendigerweise der Untersuchung entziehen müssen. Vielleicht hat auch die Bekämpfung GILBERT's durch ZOJA die Meinung, dasz im normalen Menschenserum Gallenfarbstoffe nicht vorkommen, verstärkt. Dieser Forscher ist nämlich, wie schon früher erwähnt wurde, der Ansicht, dasz der blaue Ring, der bei Vornahme der Reaktion von GILBERT in normalem Serum entsteht, ausschlieszlich durch Lutein hervorgebracht werde. Letztgenannten Körper betrachtet er denn auch als den einzigen Farbstoff des normalen menschlichen Serums.

---

[1]) OBERMAYER und POPPER, Wiener med. Wochenschr. 1910, No. 44.

[2]) LEHNDORFF, Prager med. Wochenschr. 1912, No. 37.

[3]) GILBERT et HERSCHER, Compt. rend. Soc. de Biol. Bd. 58, 1915, S. 899, DIESELBEN, Presse médic. 1906, No. 26 u. 27.
S. auch: A. GILBERT, Clinique médicale de l'hôtel Dieu de Paris.

[4]) HAMMARSTEN, Maly's Jahresber., Bd. 8, 1878, S. 129.

Mit Hülfe der von uns befolgten Methode ist es leicht zu beweisen, dasz in jedem normalen menschlichen Blutserum sowohl Bilirubin als Lutein vorkommt.

Wir wollen uns hier auf die Besprechung des Bilirubins beschränken. Wie gesagt, kann dieses in jedem Serum nachgewiesen werden, wenn auch in sehr verschiedener Menge. Es giebt Sera, namentlich bei gewissen krankhaften Zuständen, die äusserst hell gefärbt sind, und in welchen die Bilirubinreaktion nur noch gerade wahrnehmbar ist. Das sind aber Ausnahmen. So gut wie immer trifft man Mengen an, die nicht nur bequem nachweisbar sind, sondern auch mittels der oben erwähnten Methode mit genügender Genauigkeit quantitativ geschätzt werden können.

In der Absicht, das Vorhandensein des Bilirubins im normalen menschlichen Serum auszer durch die Diazoniumreaktion auch noch auf andre Weise unwiderleglich nachzuweisen, haben wir eine Methode ausgearbeitet, um diesen Farbstoff in kristallinischer Form aus kleinen Mengen Serum abzuscheiden [1]). Dabei haben wir uns einer Eigenschaft des Bilirubins bedient, die, soweit uns bekannt, in den Lehrbüchern nicht erwähnt wird, nämlich seiner leichten Löslichkeit in Azeton, einer Flüssigkeit, die gleichfalls ein vorzügliches Fällungsmittel für Eiweisz darstellt.

Wir gingen auf folgende Weise vor:

Zu 10 cm³ Blutserum werden 20 cm³ reines, farbloses Azeton hinzugefügt. Es bildet sich ein Eiweiszniederschlag, der abzentrifugiert wird. Die überstehende, mehr oder weniger intensiv gelb gefärbte Flüssigkeit enthält den grössten Teil des Bilirubins und fast kein Eiweisz. Diese Flüssigkeit wird bei gewöhnlicher Laboratoriumtemperatur in vacuo eingedampft. Verfügt man über eine gute Wasserstrahl-Luftpumpe, dann fängt sie bald zu kochen an, und nach einigen Minuten ist das Azeton verdampft. Es bleibt eine wässerige Flüssigkeit zurück, in welcher sich nebst anderen Serumbestandteilen das ganze Bilirubin in Lösung befindet. Danach schüttelt man zwei oder

---

[1]) Hymans v. d. Bergh en de la Fontaine Schluiter. Kon. Acad. v. Wetensch., 20 Nov. 1914, Dl. XXIII.

Hymans v. d. Bergh, Snapper en de la Fontaine Schluiter. Ned. Tijdschr. v. Geneesk., 1915, I., N⁰. 11, Blz. 811.

mehrere Male mit Aether aus, um soviel wie möglich die fettartigen Körper zu entfernen..

Diese gehen in den Aether über, welcher abpipettiert wird. Die letzten Spuren Aether werden in vacuo entfernt. Man kann natürlich den Aether auch, statt ihn abzupipettieren, mittels eines Scheidetrichters entfernen. Danach fügt man eine bestimmte Menge z.B. 2 cm^3 Chloroform hinzu, sauert mittels einer kleinen Menge Salzsäure schwach an und schüttelt aus. Das Bilirubin geht in das Chloroform über. Durch Zentrifugieren ist die wässerige Flüssigkeit leicht von dem Chloroform zu scheiden. Man wäscht das Chloroform gut mit Wasser aus, um alle Salzsäure los zu werden, zentrifugiert noch einmal und entfernt das Wasser durch den Scheidetrichter oder durch Abpipettieren. Es bleibt danach immer noch eine geringe Menge Wassers in dem Chloroform zurück, wodurch die Flüssigkeit zuweilen etwas trübe ist. Diese Spuren Wasser werden durch Schütteln mit ausgeglühtem Natriumsulfat entfernt. Letzteres wird abfiltriert. Man behält dann eine sehr reine Lösung des gelben Farbstoffs in Chloroform zurück (Lösung A). Dasz das gelbe Pigment in der Tat Bilirubin ist, läszt sich leicht nachweisen.

1. Schüttelt man die chloroformige Lösung mit etwas verdünnter Kali- oder Natronlauge, dann geht der Farbstoff in diese über, während das Chloroform sich entfärbt (Lösung B).

2. Setzt man jetzt ein wenig Säure zu bis zur deutlich sauern Reaktion, so entfärbt sich die überstehende Flüssigkeit wieder, während das Pigment in das darunterstehende Chloroform übergeht.

3. Setzt man zu der alkalischen Lösung (siehe sub 1) ein wenig salpetrige Säure enthaltende Salpetersäure, dann entsteht das bekannte Farbenspiel der GMELIN'schen Reaktion.

4. Gieszt man auf die alkalische Lösung vorsichtig eine kleine Menge verdünnter alkoholischer Jodiumlösung (1 : 100), so entsteht ein blauer Ring.

5. Setzt man der sehr schwach alkalischen Lösung zuerst ein doppeltes Volumen Alkohol, darauf den vierten Teil der ursprünglichen Menge von dem Diazogemisch von EHRLICH hinzu, so nimmt die Flüssigkeit eine rote Farbe an. Fügt man nun einige Tropfen starker Salzsäure hinzu, dann geht die Farbe in Blau über.

Alle diese Reaktionen beweisen mit einander unwiderlegbar, dasz das in der oben beschriebenen Weise abgeschiedene Pigment in der Tat Bilirubin ist.

Man kann aus der reinen chloroformigen Lösung (Lösung A) leicht die Kristalle des Bilirubins erhalten. Dazu bringt man die Lösung in ein Uhrglas und stelt dieses, mit einem zweiten bedeckt, in den Eisschrank. Das Chloroform verdampft langsam und auf dem Uhrglas bleiben mikroskopische, schöne, gelb gefärbte Bilirubinkristalle zurück. Diese zeigen unter dem Mikroskop bei Hinzufügung von salpetrige Säure enthaltender Salpetersäure die Reaktion von GMELIN.

Auch kann man die gelben Kristalle von neuem in dem einen oder anderen Lösungsmittel (Chloroform, verdünnte Natronlauge u. s. w.) auflösen und die oben genannten Reaktionen damit vornehmen.

Hat man keine gute Wasserstrahl-Luftpumpe zu seiner Verfügung, dann kann man die Methode auf folgende abgeänderte Weise anwenden.

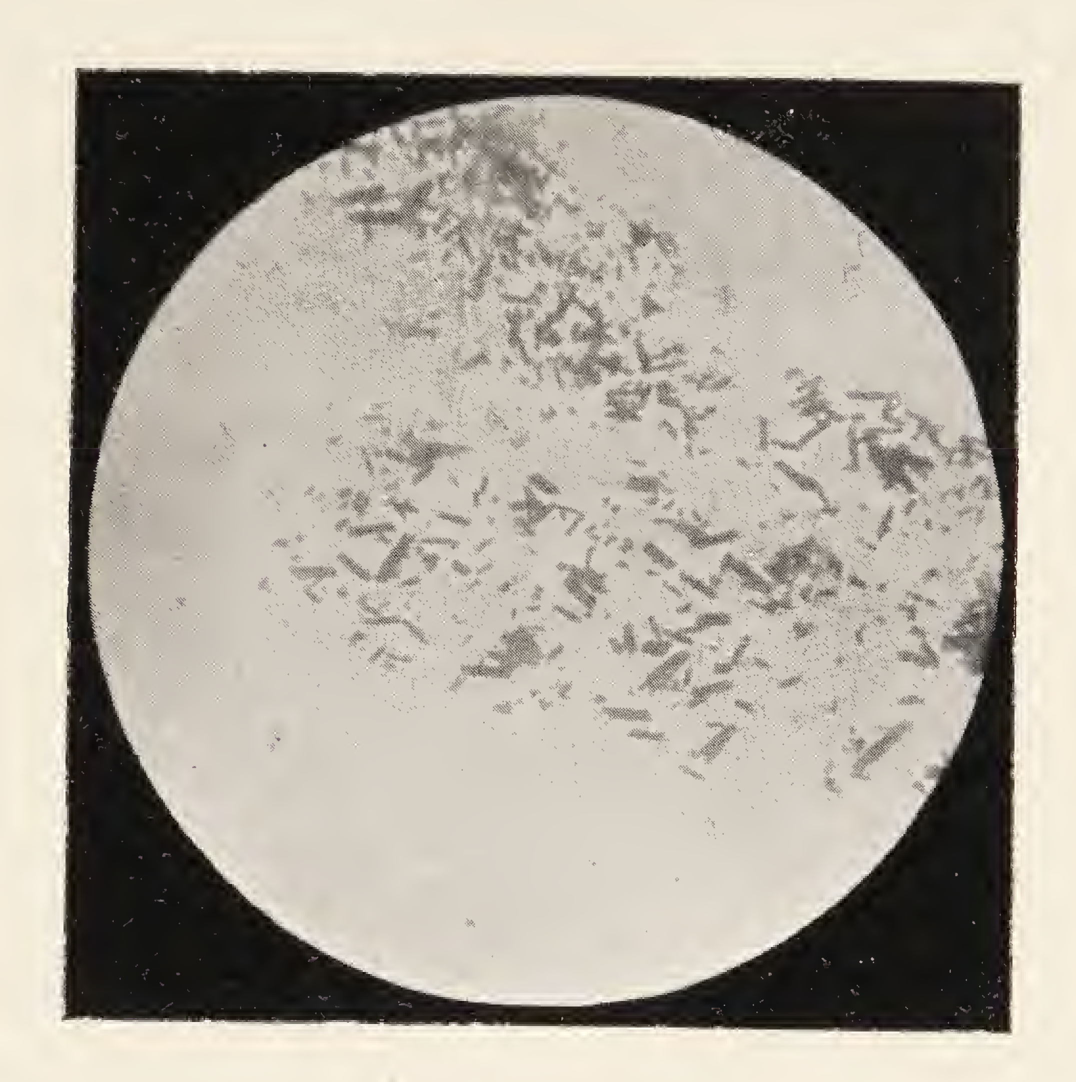
10 cm³ Blutserum werden mit 20 cm³ Azeton gefällt. Der Eiweiszniederschlag wird abzentrifugiert. Zu der abpipettierten überstehenden Flüssigkeit fügt man einige Tropfen Wasser; danach wäscht man diese Flüssigkeit mit Aether einige Male gut aus, um die fettartigen Stoffe so viel wie möglich zu entfernen. Die Aethermengen werden jedesmal durch Abpipettieren entfernt. Schlieszlich fügt man einige Tropfen Eisessig, in 1 cm³ Aether gelöst, zu der Flüssigkeit hinzu. Alles Bilirubin geht in das Gemisch von Eisessig und Aether über, das sich vollständig von der darunterstehenden Flüssigkeit abscheidet. Wenn man nun diesen gelb gefärbten Aether abpipettiert und in einem lose zugedeckten Uhrglas in den Eisschrank stellt, so findet man nach 24 Stunden die Bilirubinkristalle schön ausgebildet vor sich.

Nachstehende Abbildung ist eine Mikrophotographie von Bilirubinkristallen, die von uns hergestellt wurden aus Ascitesflüssigkeit eines Herzleiders und aus normalem menschlichen Serum.

Auf diese Weise ist somit mit Sicherheit nachgewiesen, dasz normales menschliches Serum Bilirubin enthält.

Ebenso wie in normalem Blutserum, fanden wir auch in den Exsudaten und Transsudaten von Pleura- und Bauchhöhle stets Bilirubin.

Fig. 1.



Bilirubin-Kristalle aus menschlichem Blutserum aus chloroformiger Lösung hergestellt.

Fig. 2.



Bilirubin-Kristalle aus Ascites-Flüssigkeit aus chloroformiger Lösung hergestellt.



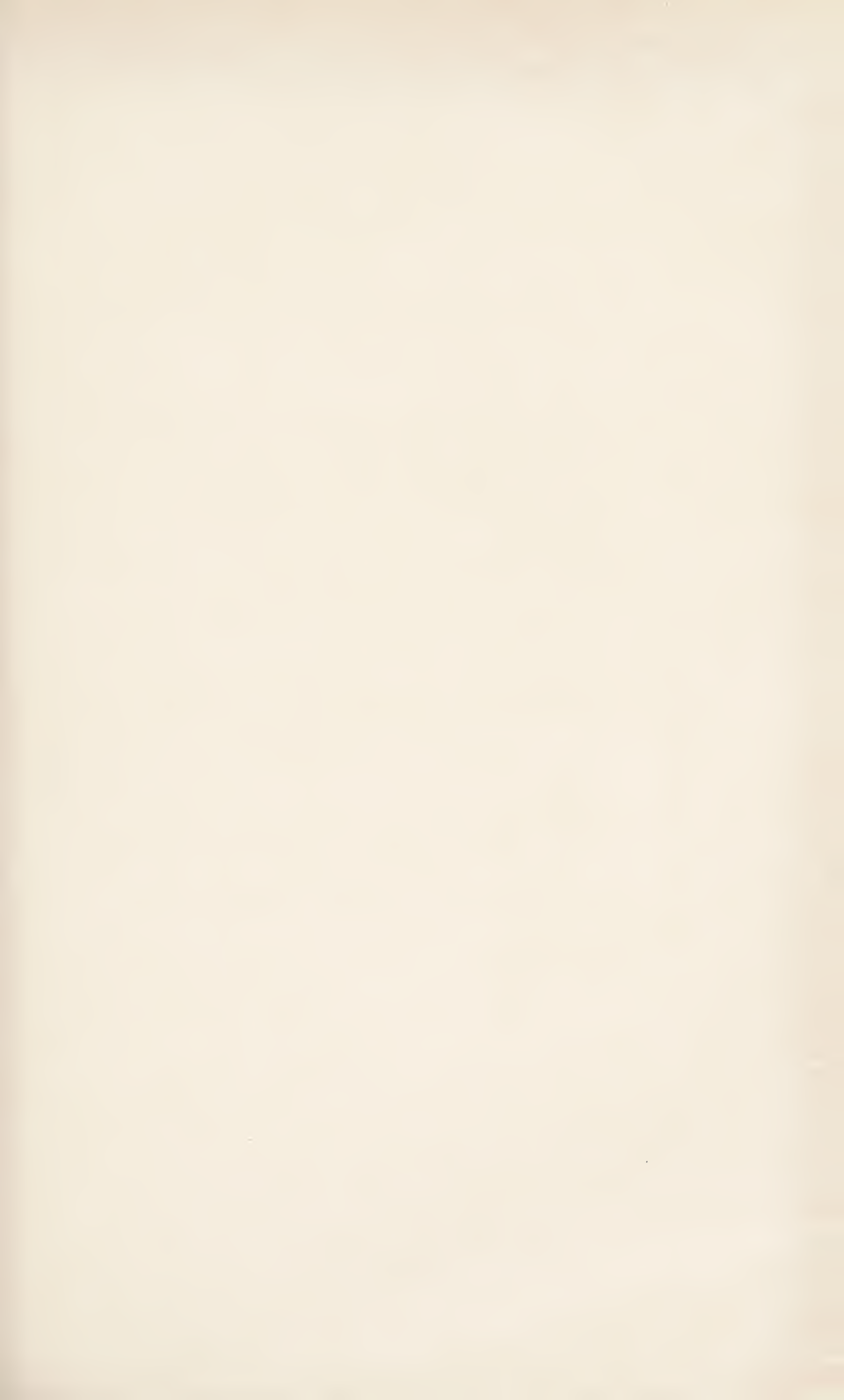
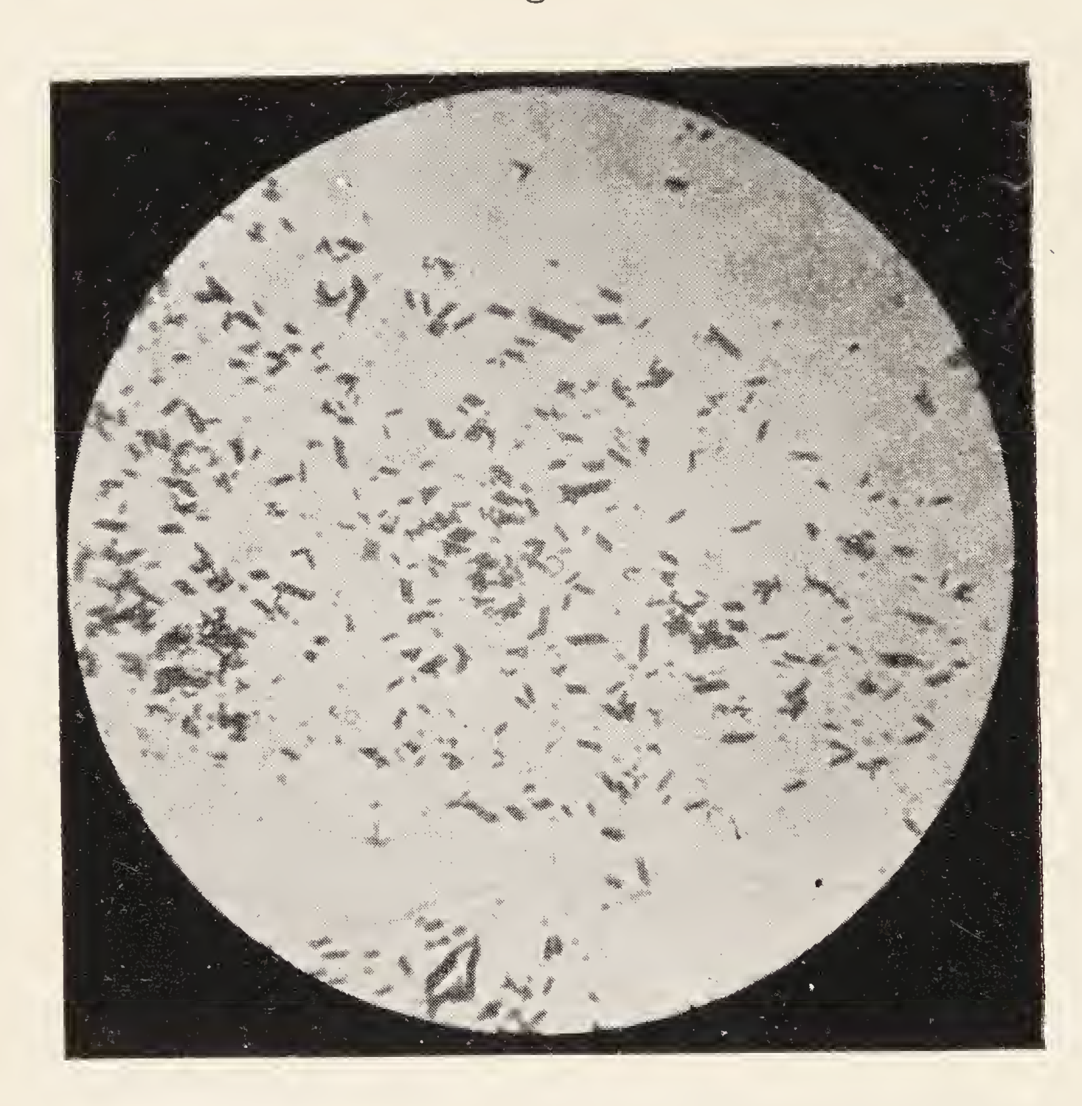


Fig. 3.



Bilirubin-Kristalle aus Ascites-Flüssigkeit aus aetherischer Lösung hergestellt.

Als wir versuchten, aus dem stark gelb gefärbten Serum von Kranken mit Stauungsikterus auf diese Weise Bilirubinkristalle herzustellen, wollte uns das nicht gelingen. Wenn wir nämlich die chloroförmige Lösung, in der sich durch die bekannten Reaktionen eine grosze Menge Gallenfarbstoff nachweisen liesz, zur Verdunstung in den Eisschrank stellten, beobachteten wir in dem Augenblicke, wo die Konzentration des Bilirubins in Folge der Verdunstung des Lösungsmittels einen gewissen Wert erreicht hatte, einen plötzlichen Farbumschlag in Grün, offenbar veranlaszt durch die Umwandlung des Bilirubins in Biliverdin. Das nämliche ereignete sich, wenn die Verdunstung in vacuo bei gewöhnlicher Temperatur erfolgte.

Wir werden später analogen Erscheinungen begegnen und haben schon früher bei Besprechung der Methode von v. Fürth eine ähnliche Erfahrung gemacht.

Es gelingt indessen auf folgende Weise auch aus dem Ikterusserum die Bilirubinkristalle zu erhalten: 5 cm^3 Serum werden mit 10 cm^3 Alkohol gefällt. Es wird zentrifugiert und danach die überstehende Flüssigkeit mit 5 cm^3 einer 10 proz. Blei-azetatlösung versetzt. Der Niederschlag reiszt die gröszte Menge des Bilirubins mit; er wird nacheinander gewaschen mit Wasser, Alkohol und Aether. Schlieszlich zieht man den gereinigten Niederschlag mit 2 bis 3 cm^3 reinem Chloroform aus, dem man einen Tropfen verdünnter Salzsäure zugefügt hat. Das Chloroform nimmt alles Bilirubin auf. Man trocknet ihn mit wasserfreiem Natriumsulfat und stellt die Flüssigkeit in den Eisschrank; nach 1 bis 2 Tagen findet man gut ausgebildete Bilirubinkristalle.

---

§ 4. *Bilirubin im Serum von Tieren.*

Das Serum von Pferden enthält stets Bilirubin. Die Menge ist wechselnd, aber immer ziemlich beträchtlich. Das Pferdeserum verdankt seine schöne goldgelbe Farbe eben dem Bilirubin, wie Hammarsten [1]) als erster zeigte. Im Serum von Kaninchen, Meerschweinchen, Schafen, Ziegen und Schweinen

---

[1]) Hammarsten, Lehrb. d. physiolog. Chemie. 8e Aufl., 1914, S. 251.

konnten wir entweder überhaupt kein Bilirubin oder nur Spuren desselben nachweisen. Der Bilirubingehalt des Rinderserums ist wechselnd. Gewöhnlich ist er sehr niedrig. Seine häufig intensiv gelbe Farbe verdankt das Rinderserum seinem Lipochrom.

Eine besondere Besprechung erfordert das Blutserum des Hundes, da dieses Tier häufig zu experimentellen Untersuchungen über den Ikterus benutzt wurde. Es ist nicht leicht, Hundeserum zu erhalten, das vollkommen frei von gelöstem Haemoglobin ist. Die roten Blutkörperchen des Hundes haben auszerhalb des Körpers offenbar eine sehr geringe Widerstandskraft, besonders gegen mechanische Einflüsse, sodasz sie schon bei der Blutentnahme zum Teil leicht zerstört werden. Mit groszer Vorsicht gelingt es jedoch gewöhnlich haemoglobinfreies Hundeserum zu erhalten. Es ist dann meistens nahezu farblos und enthält kein Bilirubin oder nur Spuren desselben.

Wir können also die von uns untersuchten Sera gesunder Tiere hinsichtlich ihres Bilirubingehaltes in zwei Gruppen einteilen:

I. *Mensch und Pferd.* Das Serum enthält bei normalen Individuen Bilirubin in wechselnder, häufig nicht unbeträchtlicher Menge.

II. *Alle andere von uns untersuchten und oben erwähnten Tiere.* Das Serum enthält bei normalen Individuen kein Bilirubin oder nur Spuren desselben.

Es wird nötig sein bei experimentellen Untersuchungen über den Ikterus sich dieser Tatsachen zu erinnern. Obwohl es selbstverständlich erscheinen mag, sei es dennoch gestattet darauf hinzuweisen, dasz man, um z. B. über den Bilirubingehalt eines Tierserums zu urteilen, sich nicht auf dessen Farbe verlassen darf. Eine chemische Untersuchung ist durchaus notwendig. Das Rinderserum und dasjenige des Huhnes sind gewöhnlich intensiv gelb gefarbt: die gelbe Farbe verdanken sie aber nicht ihrem Gehalt an Bilirubin, sondern ihrem Lipochrom-Reichtum.

---

§ 5. *Getrennte Untersuchung des Serums und der roten Blutkörperchen auf Bilirubin.*

Wir haben festzustellen versucht, ob das Bilirubin sowohl im Blutserum als in den Körperchen, oder etwa allein im Serum vorkommt.

Diese Untersuchungen haben wir angestellt an folgenden Flüssigkeiten:

a. Blut von nicht ikterischen Patienten, die auch nicht an zu Ikterus führenden Krankheiten litten.

b. Blut von Patienten mit perniziöser Anaemie.

c. Blut von Pferden.

d. Haemorrhagische Punktionsflüssigkeiten, welche viel lokal gebildetes Bilirubin enthielten. Ueber die lokale Bilirubinbildung wird weiter unten gehandelt werden.

Die Untersuchung wurde auf folgende Weise vorgenommen. Das Blut wurde defibriniert, die Gerinnsel entfernt. Darauf wurde zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde entfernt und die roten Blutkörperchen sorgfältig (fünf bis sechs mal) mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen, bis die überstehende Flüssigkeit ganz farblos war. Dem Brei der roten Blutkörperchen wurde nun eine Spur Saponin, falls notwendig auch eine geringe Menge destillierten Wassers zugesetzt, sodasz sie haemolysiert wurden. Alsdann wurde die auf solche Weise gewonnene Haemoglobinlösung mit zwei Teilen 96 proz. Alkohol gefällt, darauf zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit war stets klar und farblos. Mit ihr wurde die Reaktion mit der Diazoniumlösung angestellt. Ausnahmslos gab diese Reaktion ein negatives Resultat. Es was also nicht möglich auf diese Weise Bilirubin in den Körperchen nachzuweisen. Wir haben weiter nachzuforschen versucht, ob eine Lösung von chemisch reinem Bilirubin, die den roten Blutkörperchen hinzugefügt wurde, in diese hinein diffundierte. Zu diesem Zweck wiederholten wir den oben beschriebenen Versuch mit Pferde-Blutkörperchen, denen wir eine neutralisierte wässerige Lösung

von Bilirubin zugesetzt hatten. Auch jetzt wieder ergaben alle Einzelversuche ein negatives Resultat.

Dennoch wäre es verfehlt aus diesen Versuchen zu schliessen, dasz die roten Blutkörperchen in der Tat kein Bilirubin enthielten, und dasz reines Bilirubin nicht in die Körperchen hineindiffundieren könnte. Es wäre ja möglich, dasz der in den Körperchen enthaltene oder in dieselben hineindiffundierte Gallenfarbstoff durch die wiederholten Auswaschungen mit Kochsalzlösung aus den roten Blutzellen ausgelaugt wäre. Deshalb haben wir noch auf andere Weise versucht, dieser Frage näher zu kommen.

Defibriniertes Pferdeblut wurde scharf zentrifugiert, darauf der Bilirubingehalt des überstehenden Serums bestimmt. Ebenso wurde der Bilirubinwert bestimmt in dem Brei der ungewaschenen Blutkörperchen (zwischen welchen sich also noch etwas Serum befand), nachdem durch wiederholtes Gefrieren und Auftauen Haemolyse hervorgebracht war. Die Bestimmung erfolgte nach Fällen der haemolytischen Flüssigkeit durch 2 Teile Alkohol.

Es möge ein Beispiel aus dieser Untersuchungsreihe angeführt werden.

Die Bilirubinbestimmung in einer gewissen Portion Pferdeserum ergab:

Bilirubingehalt des Serums . . . . $3.8 \times \frac{1}{200000}$
Bilirubingehalt des Blutkörperchenbreis . $0.5 \times \frac{1}{200000}$

Die im Körperchenbrei gefundene geringe Spur von Bilirubin wird durch den Farbstoffgehalt des zwischen den Blutkörperchen vorhandenen Serums vollkommen erklärt.

Wir glauben uns berechtigt zu schlieszen, dasz die von uns untersuchten roten Blutkörperchen kein Bilirubin enthielten und dasz die Erythrozyten von Pferden für diesen Farbstoff impermeabel sind.

III. KAPITEL.

Verschiedenes Verhalten des Gallenfarbstoffes.

---

§ 6. *Ein Unterschied zwischen dem Bilirubin in frischer Galle einerseits und dem im Laboratorium bereiteten chemisch reinen Bilirubin anderseits.*

In seiner im ersten Kapitel erwähnten Arbeit hat EHRLICH nachgewiesen, dasz eine Diazoniumlösung die einem gallehaltigen Urin zugesetzt wird, eine intensiv dunkle Verfärbung hervorruft. Bei der weiteren Untersuchung dieser Reaktion ging EHRLICH in der Weise vor, dasz er das Diazoreagenz einer Lösung von Bilirubin in Chloroform zusetzte und dann soviel Alkohol hinzufügte, dasz ein homogenes Gemisch entstand. Alsdann trat die Reaktion ein. Mit dem Hinzufügen von Alkohol zu der Bilirubinlösung beabsichtigte EHRLICH offenbar nur, eine Flüssigkeit zu erhalten, in welcher sowohl der Gallenfarbstoff als die Diazoniumlösung neben einander in Lösung sein konnten.

Soviel ich weisz, haben die Forscher, welche sich mit dieser Reaktion beschäftigt haben, bei Vornahme derselben immer Alkohol zugesetzt. Auch wir hatten im Anfang unsrer Untersuchungen immer mit alkoholischen Flüssigkeiten gearbeitet, bis wir uns durch einen Zufall vor die Frage gestellt sahen, ob dies notwendig sei und wozu bejahendenfalls das Vorhandensein des Alkohols beim Kuppelungsprozess diene. Die Veranlassung, diese Frage zu stellen, bot der Umstand, dasz eines Tages bei der Bestimmung des Bilirubingehaltes einer menschlichen Galle versäumt wurde, Alkohol zuzusetzen, und die Reaktion nichtsdestoweniger ebenso schnell und ebenso schön eintrat, wie nach Hinzufügung von Alkohol. Es lag nun auf der Hand, nachzuforschen, ob auch chemisch reines Bilirubin, in sehr schwach alkalischem Wasser gelöst und danach neutralisiert, im Stande wäre, mit dem Diazokörper zu kuppeln. Es stellte sich heraus, dasz dies nicht der Fall war; stets war Zusatz von Alkohol zu der Bilirubinlösung notwendig. Dagegen gab ein wenig menschliche Galle, insofern sie unverändertes Bili-

rubin enthielt, mit Wasser vermischt, stets eine schöne Reaktion, auch ohne Hinzufügung von Alkohol. Es zeigte sich folglich, dasz Bilirubin das eine Mal ohne Hinzufügung von Alkohol, also direkt, das andere Mal nur in Gegenwart von Alkohol, also indirekt, die Diazoreaktion ergibt. Der Bequemlichkeit halber sprechen wir seitdem, und wir werden uns dieses Ausdrucks in der Folge in dieser Abhandlung bedienen, von einer *direkten* und einer *indirekten* Diazoreaktion.

Unter einer direkten Reaktion verstehen wir folglich eine solche, welche ohne Hinzufügung von Alkohol zu Stande kommt; von einer indirekten Reaktion sprechen wir, wenn Hinzufügung von Alkohol dazu erforderlich ist.

Bei der Beantwortung der Frage, welche Rolle der Alkohol bei dem Kuppelungsprozess von Bilirubin und Diazoniumverbindungen spielt, bedenke man, dasz die Kuppelungsprozesse der Diazokörper in hohem Masze vom Milieu beeinfluszt werden. [1]) So ist es bekannt, dasz bei weitem die meisten dieser Reaktionen nur in alkalischer Mitte stattfinden. Nur in wenigen Fällen tritt die Binding bei saurer Reaktion ein.

Wir untersuchten deshalb, ob auch die Hinzufügung von anderen Substanzen als Aethylalkohol im Stande wäre, die Kuppelung von Diazoniumverbindungen und Bilirubin zu Stande zu bringen.

Auszer Methyl- und Aethylalkohol erwiesen sich die folgenden Körper als dazu geeignet:

1. NaOH-Lösung.
2. Glycocholsäure, Dehydrocholsäure, Cholsäure (andere Gallensäurederivate hatten wir nicht zu unserer Verfügung).
3. Einzelne andere schwache Säuren, z. B. Zitronensäure.

Bei all unseren Untersuchungen gingen wir von einer neutralen Natriumbilirubinatlösung aus, die wir durch Lösung von Bilirubin in schwach alkalischem Wasser und spätere sorgfältige Neutralisierung erhielten.

Diese ursprüngliche Bilirubinatlösung reagiert nicht mit dem Diazoniumsalz.

---

[1]) Für die Literatur über die Kuppelung des Bilirubins mit Diazoniumsalzen siehe: P. Clemens, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 1899, Bd. 63.
S. ferner: Pröscher, Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. 29.
Orndorff und Teeple, Festschr. f. Salkowski. S. 411.

Fügt man jedoch einige Tropfen $\frac{1}{10}$ normal NaOH oder eine nicht zu stark verdünnte neutrale Lösung der Na-Salze der genannten Säuren, und danach das Diazoniumreagenz hinzu, dann kommt sofort eine Farbenveränderung zu stande. Der auf diese Weise entstehende Azofarbstoff hat in neutraler oder schwach saurer oder schwach alkalischer Lösung eine rote Farbe. Diese wird verändert:

1. Durch einen Tropfen starker Lauge in gelbgrün bis grünblau, was von der Menge der Diazoniumlösung abhängt.

2. Durch einen Tropfen starker Salzsäure in grünblau bis dunkelblau.

Im Gegensatz zu chemisch reinem Bilirubin gibt Galle, wie schon wiederholt gesagt wurde, mit Wasser verdünnt, direkt, also ohne irgend einen Zusatz, eine positive Reaktion bei Hinzufügung eines Diazokörpers. Was ist der Grund dieses verschiedenen Verhaltens?

Die folgenden Möglichkeiten kommen in Betracht:

1. Es könnte sein, dasz nicht das Bilirubin, sondern ein ganz andrer in der Galle enthaltener Stoff die Reaktion gibt. Diese Annahme ist aus verschiedenen Gründen äuszerst unwahrscheinlich.

Erstens sind bisher auszer Bilirubin keine Gallenbestandteile bekannt, die in einem stark mineralsauern Milieu kuppeln.

Ferner haben wir gefunden, dasz der Körper, welcher durch die Kuppelung entsteht, völlig mit den Produkten übereinstimmt, die man, von reinem Bilirubin ausgehend, erhält: bei Zusatz von starker Mineralsäure oder Lauge erhält man dieselben Farbentöne wie mit der Azoverbindung aus reinem Bilirubin. Bei spektroskopischer Untersuchung stellte sich weiter heraus, dasz auch die Absorptionsbänder der entsprechenden Farbstoffe, die man aus Galle und aus Bilirubin erhält, die gleichen sind: in stark salzsauerm Milieu findet man ein Band bei 540—610 $\mu\mu$, in stark alkalischem Milieu bei 550—630 $\mu\mu$.

Ferner, wenn das Bilirubin in der Galle oxydiert wird, sei es durch Stehen an der Luft, sei es durch die Einwirkung von Nitrit, so verschwinden gleichzeitig die direkte und die indirekte Azoreaktion, und die Farbe wird sowohl in sauerm, als in alkalischem Milieu grün infolge der Bildung von Biliverdin.

2. Eine zweite Möglichkeit, das verschiedene Verhalten des

Bilirubinats, je nachdem es sich in der Galle oder in einer wässerigen Lösung befindet, zu erklären, wäre diese, dasz sich in der Galle neben dem Bilirubin noch Stoffe fänden, welche die Kuppelung mit Diazokörpern fördern, bezw. die Bildung von Azokörpern zu stande bringen.

Diese Annahme hat auf den ersten Blick die meiste Wahrscheinlichkeit für sich.

Zuerst dachten wir, dasz die alkalische Reaktion der Galle Ursache der Erscheinung sei. Diese Meinung stellte sich aber als falsch heraus. Denn wenn man Galle mit so viel Wasser verdünnt, dasz die Farbe nur noch eben gelb gefärbt erscheint und die alkalische Reaktion also nicht mehr in Betracht kommt, (z.B. nach einer Verdünnung von 1 Teil Galle mit 500 bis 1000 Teilen Wasser), dann kommt die Kuppelung noch eben so schnell zu stande wie bei unverdünnter Galle.

Noch deutlicher läszt sich die Unhaltbarkeit der hier genannten Annahme nachweisen, indem man mit Wasser verdünnte Galle sorgfältig durch $\frac{1}{10}$ normal Salzsäure neutralisiert: auch mit der neutralen Lösung findet sofort die Kuppelung statt.

Ferner dachten wir an die Glycocholsäure, die ja in menschlicher Galle stets vorhanden ist. Gegen diese Ansicht spricht aber folgendes: wenn man eine Kuppelung einer wässerigen Bilirubinatlösung mit dem Diazoniumsalz mittels Zusetzen von Cholsäure zu veranlassen sucht, so stellt sich heraus, dasz dazu eine verhältnismäszig grosze Menge dieser Säure erforderlich ist. Spuren derselben reichen nicht hin.

Dagegen kann man Galle bis zum äuszersten verdünnen, und es tritt doch noch — wie oben angegeben — die direkte Reaktion ein, während sich doch selbstverständlich nach der Verdünnung nur geringe Spuren der Cholsäure in der Flüssigkeit vorfinden.

3. Schlieszlich könnte es sein, dasz das Bilirubin, so wie es in der Galle vorkommt, eine Zusammensetzung hätte, welche ein wenig von der des chemisch reinen Bilirubins abwiche. — Diese Annahme ist durchaus nicht unwahrscheinlich. Das von uns gebrauchte Präparat stammte von Schuchard und war nach der Methode von Küster bereitet. Hierbei geht man von Rindergallensteinen aus; eine Reihe von Manipulationen sind bei der Ausführung dieses Verfahrens erforderlich. Es ist nun zunächst nicht undenkbar, dasz das Bilirubin in solchen alten

Konkrementen eine einigermaszen andere Zusammensetzung hätte, als das Bilirubin in der frischen Galle. Ferner könnten die zahlreichen Reaktionen, die bei der Bereitung vorgenommen werden, sehr wohl solche geringe Veränderungen in der Konstitution des Moleküls hervorbringen.

So fand KÜSTER [1]), dasz alte Bilirubinpraeparate 2 Atome Silber ersetzen können, frische Präparate aber 4 Atome Silber.

Man musz hierbei auszerdem auf den eigenartigen Charakter der Azoreaktion des Bilirubins achten. In allen vorgeschlagenen Formeln des Bilirubins hat man das Molekül Gallenfarbstoff aus vier Pyrrolkernen in der Art aufgebaut, dasz diese Kerne tetrasubstituiert sind. Bei den bekannten Pyrrolen hat man nun gefunden — und dies wird auch als wichtiges Element zur Konstitutionsbestimmung benutzt — dasz eine freie nicht-substituierte CH-Gruppe in einem Pyrrolkern (namentlich eine freie αCH-Gruppe) reagiert:

1. mit einer Diazoniumlösung zu einem Azofarbstoff;
2. mit Aldehyden (Formaldehyd, Dimethylaminobenzaldehyd).

Bilirubin gibt nun eine Azoverbindung, sogar eine Disazoverbindung, bildet mit Formaldehyd aber nur unter Einflusz von starker Schwefelsäure einen Farbstoff. [2])

Man musz also für das Zustandekommen der Azoreaktion vom Bilirubin annehmen [3]):

entweder, dasz ein Substituent verdrängt wird,
oder dasz eine intramolekuläre Atomverschiebung stattfindet.

In letzterem Falle — dem der intramolekulären Atomverschiebung — kann man sich wieder zweierlei denken. Bei der Bereitung des Bilirubins aus Gallensteinen kann durch die verschiedenen Reaktionen eine Atomverschiebung stattgefunden haben, derzufolge das zur Kuppelung geeignete Molekül in ein solches verwandelt wurde, das zur direkten Kuppelung nicht im stande ist. Oder aber, das zur direkten Kuppelung nicht geeignete Bilirubinmolekül kann in der Galle, durch das Vorhandensein anderer Gallenbestandteile, eine Veränderung erfahren, durch welche es zur direkten Kuppelung geeignet gemacht wird.

---

[1]) KÜSTER, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 82, 1912, S. 471.
[2]) KÜSTER, ibid., Bd. 91, 1914, S. 60.
[3]) KÜSTER, Arch. d. Pharmazie, Bd. 253, 1915, S. 477.

Da, wie wir soeben bereits mitteilten, weder dem Alkaligehalt der Galle, noch dem Glycocholat der gedachte Einflusz zugeschrieben werden kann, so haben wir die Wirkung der Temperatur untersucht. Dabei stellte sich folgendes heraus:

a. nach einer kurze Zeit dauernden Erhitzung einer wässerigen Gallenlösung bleibt diese sowohl zur direkten wie zur indirekten Reaktion fähig;

b. mit einer wässerigen Gallenlösung, welche 5 Minuten gekocht wurde, ist die indirekte Reaktion (also unter Zusatz von Alkohol) positiv, die direkte Reaktion dagegen negativ.

Gleichwohl tritt die direkte Reaktion auch in diesem Falle allmählich ein, wenn man die Flüssigkeit einige Zeit bei gewöhnlicher Temperatur stehen läszt. Im Hinblick auf später noch anzugebende Tatsachen sei hier auf diese verspätete direkte Reaktion hingewiesen.

Um den Einflusz der Temperatur näher zu studieren, machten wir noch folgende Versuche:

c. Galle wurde mit Chloroform extrahiert, dieses darauf auf dem Wasserbade eingedampft. Der Rückstand wurde in sehr verdünnter Lauge gelöst, danach genau neutralisiert. Diese Lösung gibt wohl die indirekte, nicht aber die direkte Reaktion.

d. Galle wurde bis Trocken eingedampft; der Rückstand in sehr verdünnter Lauge gelöst, und diese neutralisiert. Die indirekte Reaktion war positiv, die direkte negativ.

e. Galle wurde mit Chloroform extrahiert, dieses in vacuo bei Laboratoriumstemperatur eingedampft. Der Rückstand wurde in sehr verdünnte Lauge gelöst, danach neutralisiert. Diese Lösung gibt sowohl die direkte als die indirekte Reaktion.

Durch diese Versuche ist also nachgewiesen, dasz eine die direkte Reaktion gebende Bilirubinlösung diese Fähigkeit durch eine kurz dauernde Erhitzung verliert. Da nun bei der Bilirubinbereitung aus Rindergallensteinen nach Küster höhere Temperaturen angewandt werden, ist damit das verschiedene Verhalten des Gallenbilirubins und des künstlich bereiteten Bilirubins gegenüber dem Azokuppelungsprozess befriedigend erklärt.

Endlich haben wir noch durch Extrahieren der Galle mit verschiedenen Lösungsmitteln die den Kuppelungsprozess fördernde Substanz zu ermitteln gesucht.

a. Galle wurde mit Chloroform ausgezogen. Dem bilirubin-

haltigen Chloroform wurde durch Ausschütteln mit verdünnter Lauge der Gallenfarbstoff ganz entzogen. Das farblos gewordene Chloroform wurde eingedampft.

Ein Teil des Rückstandes wurde in Wasser gelöst und einer neutralisierten Lösung reinen Bilirubins zugesetzt.

Direkte Reaktion ist negativ.

b. In einem andern Teil des unter *a* genannten Chloroforms wurde Bilirubin gelöst, danach wurde dieses Chloroform mit der Diazoniumlösung geschüttelt.

Direkte Reaktion negativ.

c. Galle wurde mit Aether ausgezogen, dieser in vacuo verdampft. Der Aetherrückstand wurde in Wasser gelöst und einer neutralisierten Bilirubinlösung zugesetzt.

Direkte Reaktion negativ.

d. Galle wurde einige Zeit mit Chloroform geschüttelt. Darauf wurde nach Entmischung die Galle vom Chloroform getrennt und mit verdünnter Lauge ausgeschüttelt. Nachdem die Lauge das Bilirubin aufgenommen hatte, wurde neutralisiert.

In der so erhaltenen bilirubinathaltigen neutralisierten Flüssigkeit waren direkte und indirekte Reaktion positiv.

Es ist uns also nicht gelungen, durch Behandlung mit Chloroform oder Aether eine Substanz aus der Galle auszuziehen, welche, einer Bilirubinlösung zugesetzt, die direkte Kuppelung mit einem Diazoniumsalz hervorbringt.

Aus den bis jetzt mitgeteilten Tatsachen ergibt sich:

A. Eine Bilirubinatlösung gibt mit einer Diazoniumlösung einen Azofarbstoff nur unter folgenden Umständen:

1. Vorhandensein von Methyl- oder Aethylalkohol.

2. Vorhandensein von Salzen einiger schwachen Säuren (z. B. Cholsäure und ihrer Derivate).

3. Hinzufügung von etwas Alkali zu der ursprünglichen Bilirubinatlösung.

B. Galle gibt direkt einen Azofarbstoff mit einer Diazoniumlösung. Sie verliert diese Eigenschaft durch Erhitzung ganz oder zum Teil.

---

§ 7. *Verschiedenes Verhalten verschiedener bilirubinhaltiger Blutsera und Exsudate.*

Der Gallenfarbstoff, den wir aus verschiedenen menschlichen Blutsera (ikterischer und nicht-ikterischer Kranken) aus der Galle, aus Pferdeserum, sowie aus gelb gefärbten Exsudaten bereiten konnten, hatte immer dieselben chemischen Reaktionen und ein selbes spektroskopisches Verhalten gezeigt. Einen Unterschied hatten wir zuerst nicht angetroffen.

Die im vorigen Paragraphen beschriebene Reaktion hat jedoch einen Unterschied zwischen verschiedenen Gallenfarbstoff enthaltenden Sera zu Tage gefördert.

Die untersuchten Flüssigkeiten teilen wir, zur Besprechung der erhaltenen Resultate, zweckmässigerweise in zwei Gruppen ein.

Gruppe I. Blutsera von Patienten mit Stauungsikterus.

„ II. Blutsera von anderen Patienten und von Pferden. Punktionsflüssigkeiten mit lokal gebildetem Bilirubin.

Gruppe I. In allen Fällen, in welchen ein mechanischer Stauungsikterus vorlag — welche auch immer die Ursache sein mochte, und ganz gleich ob der Ikterus leicht oder schwer war — wurde, sowie nur eine leicht gelbe Farbe der Haut oder der Schleimhäute wahrzunehmen war und Gallenpigmente im Urin nachgewiesen werden konnten, eine direkte Reaktion angetroffen.

Wir nahmen die Reaktion in der Weise vor, dass wir einem Volumen Serum 1 Vol. (oder mehr) Wasser zusetzten, und diesem Gemisch $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Vol. Reagenz hinzufügten.

In all diesen Fällen trat die Reaktion in wenigen Sekunden, höchstens 30, ein.

Gruppe II. Ganz anders verhielten sich viele andere Sera, welche eine mehr als normale Menge Bilirubin enthielten, jedoch von Patienten stammten, bei welchen kein mechanischer Ikterus vorlag. Bei diesen kam zwar eine Reaktion auch ohne Zusatz von Alkohol zu Stande, diese trat aber beträchtlich später ein, als in den Fällen der Gruppe I.

Es dauerte 2, 3, 4 Minuten oder noch länger, bevor die Reaktion deutlich zu werden anfing, und noch länger, bis sie ihre gröszte Intensität erreicht hatte. Wiederholte man den Versuch unter Zusatz von Alkohol, so trat die Reaktion fast im selben Moment und maximal ein.

Die zwei Gruppen von Sera verhalten sich also verschieden, sei es auch dasz der Unterschied nur ein relativer, bezw. ein zeitlicher ist. Die eine Gruppe der Sera gibt, ebenso wie verdünnte Galle, die direkte Azoreaktion sofort und maximal; die anderen Sera geben die direkte Reaktion entweder gar nicht oder erst nach verschieden langer Zeit (2 bis 4 Minuten), wobei die maximale Kuppelung erst langsam erreicht wird. Während weiter im Falle der ersten Gruppe alles Bilirubin in Azofarbstoff umgesetzt wird, wird bei den Sera der zweiten Gruppe nur ein Teil, $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{2}$ der Menge des Gallenfarbstoffs, gekuppelt.

Betrachten wir die untersuchten Sera genauer:

a. Pferdeserum.

Nur einmal fanden wir eine direkte Reaktion. Alle anderen Pferdesera gaben keine direkte Reaktion.

b. Bilirubinreiches Serum von Kranken, die an perniziöser Anaemie litten. Dies gab niemals eine direkte Reaktion.

c. Serum eines an paroxysmaler Haemoglobinurie leidenden Kranken [1]). Direkte Reaktion negativ.

d. Haemorrhagische Punktionsflüssigkeiten. Diese sind für das Studium unsrer Reaktion ganz besonders wertvoll. Läszt sich doch hier der Beweis, dasz man es mit einer anhepatischen Bilirubinbildung zu tun hat, mit aller Genauigkeit erbringen. Leider trifft man derartige Flüssigkeiten, die für diese Untersuchung geeignet sind, nicht allzu oft an, da sie häufig viel Haemoglobin in Lösung enthalten. Die dadurch hervorgebrachte rote Farbe verhindert dann die Beurteilung des Entstehens der direkten Diazoreaktion. Wir waren aber dennoch in der Lage mehrere haemorrhagische Flüssigkeiten zu untersuchen, welche entweder gar kein oder so wenig gelöstes Haemoglobin enthielten, dasz dies nicht störend wirkte. In all diesen Fällen war die direkte Reaktion negativ.

---

[1]) Wir verdanken dieses Serum der Freundlichkeit von Dr. Polak Daniels im Haag. — Bemerkung zur zweiten Auflage: jetzt in Groningen.

Dagegen geben gelb gefärbte Punktionsflüssigkeiten, die von Patienten mit Stauungsikterus herrühren, wie zu erwarten war, stets eine positive Reaktion.

e. Besondere Beachtung verdienen die Sera, welche von Patienten herrühren mit Leberstauung infolge von Herzinsufficienz. Bei allen Patienten, welche, sei es infolge eines Klappenfehlers, einer Schrumpfniere, eines Emphysems oder irgend einer beliebigen anderen primären Krankheit, an einer ungenügenden Tätigkeit des Herzmuskels leiden, fanden wir eine Erhöhung des Bilirubingehaltes des Blutserums. Bei solchen Patienten ist oft eine leicht gelbliche Hautfarbe wahrzunehmen. Im Urin findet man Urobilin oder dessen Mutterstoff, aber mittels der gebräuchlichen Methoden (HUPPERT-SALKOWSKI) keine Gallenfarbstoffe. Verbessert sich die Herztätigkeit, so wird die Hautfarbe wieder normal, und der Urobilingehalt des Urins, sowie der Bilirubinwert des Blutserums, nehmen ab. Wird die Stauung schlimmer, dann nehmen auch alle genannten Erscheinungen in Intensität zu, und es tritt dann oft ein deutlicher Ikterus ein mit Gelbfärbung der Haut und der Sclerae und mit Bilirubin im Urin.

Das Merkwürdige bei diesen Patienten besteht nun darin, dasz wir im Anfangsstadium der Stauung eine negative direkte Reaktion, dagegen bei zunehmender Stauung und Eintreten von echtem Ikterus eine positive direkte Reaktion im Blutserum erhielten.

Wir waren in einigen Fällen in der Lage, die Leber und die Gallenwege von Herzleidenden zu untersuchen, die infolge von Herzschwäche unter Stauungserscheinungen mit deutlichem Ikterus gestorben waren. In diesen Fällen fanden wir die Gallenwege durchlässig, die Galle selbst aber war in eine dicke, zähe, wenig flüssige und dunkel gefärbte Flüssigkeit verwandelt. Man hat sich gewöhnt, solche Galle mit dem Namen pleiochrom zu bezeichnen, womit man zum Ausdruck bringen will, dasz sie reich an Farbstoff ist. Dieser Ausdruck ist unseres Erachtens nicht glücklich gewählt, denn die Zähigkeit der Galle ist nicht ihrem hohen Farbstoffgehalt zuzuschreiben; eine hochgradige Bilirubinkonzentration erhöht bekanntlich die Viscosität einer Lösung nicht oder nicht erheblich. Dasz die Flüssigkeit zähe und klebrig wird, ist vielmehr ihrem Schleimreichtum, sowie dem Umstand zuzuschreiben, dasz sie arm an

Wasser ist. Man übersehe nicht, dasz die Leberzellen, um Galle bilden zu können, auszer den spezifischen Bestandteilen auch Wasser müssen ausscheiden können. Wenn die Tätigkeit des Herzens nachläszt, wird ebenso gut wie im Urin auch mit der Galle weniger Wasser sezerniert. Dadurch wird die Viscosität der Galle abnormal grosz; sie kann nicht unbehindert durch die Gallenwege abflieszen. Vermutlich bilden sich in den feinen Gallenwegen Thrombi im Sinne EPPINGER's [1]) und so kommt es zu einem echten mechanischen Stauungsikterus. Nach unseren oben erwähnten Beobachtungen kann es also nicht wundern, dasz wir in solchen vorgeschrittenen Fällen von Herzinsufficienz eine direkte Reaktion im Serum erhielten.

Die Gelbsucht bei beginnendem, durch Herzschwäche verursachtem Stauungsikterus glauben wir uns anders vorstellen zu müssen. Wir halten diese für die Folge einer Funktionsstörung der Leberzellen. Es ist eine allgemeine Erscheinung, dasz die spezifischen Elemente des Drüsenparenchyms bei Stauung infolge von Zirkulationsstörungen schwer leiden. So ist es zum Beispiel allgemein bekannt, dasz die Nierenepithelien bei Stauung eine ihrer wichtigsten Eigenschaften — die Undurchlässigkeit für Eiweisz — verlieren. Ebenso liegt es nahe anzunehmen, dasz die Leberzellen bei beginnender Stauung das ihnen zuströmende Bilirubin weniger vollständig ausscheiden, als es in normalen Verhältnissen geschieht. Vielleicht kommt noch hinzu, dasz in Folge der Stauung in den das Blut zerstörenden Organen eine gröszere Blutdissolution als im normalen Zustande stattfindet und folglich den sezernierenden Leberzellen eine gröszere Menge Bilirubin zugeführt wird.

f. Einen Gegensatz zu diesen Fällen bilden Patienten, bei denen man den allerersten Anfang eines mechanischen Stauungsikterus zu beobachten in der Lage ist. Als Beispiel betrachten wir Patienten mit Gallensteinkrankheit. In einigen Fällen konnten wir zu Beginn des Anfalls das Blut untersuchen und diese Untersuchung in den folgenden Tagen wiederholen. Ganz im Anfang, als der Bilirubingehalt nur ein wenig gröszer war als bei normalen Individuen, fanden wir die direkte Reaktion negativ. Sobald aber der Bilirubingehalt gröszer ge-

---

[1]) H. EPPINGER, siehe: Ergebnisse der inneren Medizin und Kinderheilkunde, I, 1908, S. 107, woselbst Literatur.

worden war, erhielten wir eine positive Reaktion. Auch hier glauben wir uns den Prozess ähnlich vorstellen zu müssen, wie in den oben erwähnten Fällen. Beim Beginn des Anfalls liegt nur eine Funktionsstörung der Leberzellen vor, welche infolge dessen das Bilirubin weniger vollständig ausscheiden. Später kommt es zu einer echten mechanischen Gallenstauung infolge Verlegung der Gallenwege.

Legen wir uns von neuem die Frage vor: was ist die Ursache des Unterschiedes zwischen den zwei Gruppen von Sera, denjenigen, welche eine direkte, und denjenigen, welche keine direkte Reaktion geben?

Verschiedene Möglichkeiten müssen in Betracht gezogen werden.

Gewöhnlich ist das Ikterusserum reicher an Bilirubin als das von Kranken, die der Gruppe II zugehören. Man könnte also vermuten, dasz die Menge Gallenfarbstoff im Serum eine Rolle spiele, in der Weise, dasz die Reaktion eintrete, wenn viel, ausbleibe, wenn wenig Pigment vorhanden ist. Aber diese Annahme ist unhaltbar: wenn man nämlich Ikterusserum mit Wasser verdünnt, bis nur noch eine leicht gelbe Farbe wahrnehmbar ist, dann tritt die direkte Reaktion nichtsdestoweniger momentan ein.

Auszerdem kommt es häufig genug vor, dass man zur zweiten Gruppe gehörende Sera zu untersuchen bekommt, deren Bilirubingehalt ebenso hoch oder sogar noch höher ist als die Gallenfarbstoffmenge, die man in zur gleichen Zeit zur Untersuchung gelangenden Sera von Patienten mit Stauungsikterus vorfindet.

Die folgende Tabelle, in welcher einige von uns vorgenommene, darauf sich beziehende Bestimmungen als Beispiel wiedergegeben sind, möge dies erläutern.

Zur Vergleichung diente immer eine Bilirubinlösung von 1 : 200000. In diesem Masze sind also die gefundenen Werte ausgedrückt. Die Zahlen in der ersten Spalte deuten an, wie viel $\frac{1}{200000}$ der Bilirubingehalt des betreffenden Serums betrug.

Also: ein Serum mit 0.5 enthält 1 : 400000, ein Serum mit 2 enthält 1 : 100000, eine Flüssigkeit mit 9.8 enthält fast 1 : 20000 Bilirubin, u. s. w.

Sera von Patienten mit normalem oder niedrigem Bilirubinwert.

Krankheit.	Bilirubinwert des Serums.	Direkte Diazo-Reaktion.	Krankheit.	Bilirubinwert des Serums.	Direkte Diazo-Reaktion.
Diabetes	0.25	negativ	Lungenemphysem ohne Kreislaufstörung.....	0.27	negativ
Ulcus ventriculi.	0.5	negativ	Idem	0.36	negativ
Lungeninfiltrat .	0.45	negativ	Idem	0.21	negativ
Arteriosklerose. .	0.52	negativ	Klimakterische Beschwerden . .	0.37	negativ
Chronische interstitielle Nephritis	0.3	negativ	Purpura	0.5	negativ
Neuralgie	0.2	negativ	Pneumonie nach der Heilung . .	0.17	negativ

Sera von Patienten mit hohem Bilirubinwert.

Krankheit.	Bilirubinwert des Serums.	Direkte Diazo-Reaktion.	Krankheit.	Bilirubinwert des Serums.	Direkte Diazo-Reaktion.
Perniziöse Anämie	1.5	negativ	Cholelithiasis (sofort nach dem Anfall)........	5.6	positiv
Idem	2.4	negativ	Ikterus catarrhalis	1.0	positiv
Idem	4.6	negativ	Idem	5.-	positiv
Idem	3.4	negativ	Atrophische Leberzirrhose	1.1	positiv
Haemolytischer Ikterus [1])	5.25	negativ			

[1]) Junger Mann mit congenitalem haemolytischem Ikterus. Haut deutlich gelb, Sclerae schwach gelb gefärbt, Urin enthält kein Bilirubin, ziemlich viel Urobilin.

Punktionsflüssigkeiten und Pferdeserum.

Art der Flüssigkeit.	Bilirubin wert der Flüssigkeit.	Direkte Diazo-Reaktion.	Art der Flüssigkeit.	Bilirubin-wert der Flüssigkeit.	Direkte Diazo-Reaktion.
Haematokele....	13.3	negativ	Pferdeserum.....	0.6	negativ
			Idem	8.-	negativ
Pericarditis haemorrhagica	2.6	negativ	Idem	5.3	negativ
Pleuritis haemorrhogica [1] .	sehr hoch	negativ	Idem	2.6	negativ
			Idem	2.1	negativ
Haemopneumothorax traumaticus [2]........	9.8	negativ	Idem	1.4	negativ
Kyste-Flüssigkeit	11.-	negativ	Ascitesflüssigkeit Leberzirrose...........	0.8	positiv
			(Blutserum dieses ikterischen Kranken)	5.-	positiv

Diese Tatsachen beweisen mit Bestimmtheit, dasz das Zustandekommen der direkten Reaktion nicht von der Menge des Bilirubins im Serum beeinfluszt wird. Wir müssen also nach anderen Ursachen suchen. Sehr ansprechend erscheint die Annahme, das Bilirubin in der zweiten Gruppe sei an andere Körper gebunden (Eiweiszstoffe, Lipoiden u. s. w.) und die Lösung dieser Verbindung sei die Vorbedingung für das Zustandekommen der Kuppelung. Beim echten mechanischen Stauungsikterus würde, nach dieser Auffassung, das Bilirubin bereits in freiem Zustande ausgeschieden werden. Das verspätete Eintreten der Reaktion bei den Fällen der zweiten Gruppe würde zu dieser Auffassung sehr gut stimmen. Also würde, um es noch einmal zu wiederholen, nach dieser Auffassung die Einwirkung des Reagenz auf das Serum zunächst das Bilirubin aus seiner Verbindung lösen müssen, danach erst würde die

[1]) Man hat versäumt, den Bilirubinwert im Protokoll aufzuzeichnen.
[2]) Der Bilirubinwert des Blutserums dieses Patienten betrug 0.73.

Kuppelung des Bilirubins mit dem Diazokörper erfolgen können. Um den Wert dieser Auffassung zu prüfen, haben wir auf verschiedene Portionen eines Serums, welches erst nach fünf bis zehn Minuten eine direkte Reaktion gab, die Bestandteile des Reagenz einwirken lassen.

Je eine Portion dieses Serums wurde also versetzt mit:

a. Salzsäure, *b.* Sulfanilsäure, *c.* einem Gemisch von beiden, *d.* einem Gemisch von Salzsäure und Nitrit, *e.* einem Gemisch von Sulfanilsäure und Nitrit.

Nachdem diese Gemische 15 bis 30 Minuten gestanden hatten, wurde zu jedem das Diazoreagenz zugesetzt. Es trat keine Reaktion ein.

Der direkte Versuch hat also auch die letztere, am meisten versprechende Annahme nicht zu stützen vermocht.

Es wäre noch an eine dritte Möglichkeit zu denken.

Es könnte nämlich sein, dasz in dem Serum der Patienten der IIen Gruppe hemmende Substanzen vorhanden wären, welche die Reaktion durch Bindung des Diazokörpers verzögerten. In der Tat bindet das Serumeiweisz eine gewisse Menge des Diazokörpers; man musz daher dem unverdünnten Serum mehr Reagenz zusetzen als dem verdünnten oder der alkoholischen Lösung. Auch WEISS und SSOBOLEW [1]) beobachteten bei ihren Untersuchungen über die Wirkung von Diazoniumverbindungen auf Histidin derartige Hemmungen.

Gleichwohl erhielten wir auch bei Hinzufügung einer gröszeren Menge Reagenz in den Fällen der IIen Gruppe keine direkte Reaktion, sodasz nach unserer Meinung auch diese Annahme widerlegt ist.

Die gröszte Wahrscheinlichkeit schlieszlich hat vielleicht die Annahme, dasz dieselben Einflüsse (Substanzen), welche in der Galle das Zustandekommen der direkten Reaktion verursachen, diese auch im Serum von Patienten mit mechanischem Stauungsikterus veranlassen, und dasz in den anderen Sera deshalb keine direkte Reaktion eintritt, weil die genannten Einflüsse oder Substanzen fehlen oder in nicht hinreichender Menge vorhanden sind. Dennoch besteht ein wichtiger Unterschied zwischen dem reinen Bilirubin und den letztgenannten Sera: reines Bilirubin gibt *gar keine* direkte Reaktion, die genannten Sera geben eine verzögerte und unvollständige Reaktion. Sollte

[1]) WEISS und SSOBOLEW, Biochemische Zeitschr. Bd. 58, S. 119, 1914.

man hieraus schliessen dürfen, dasz diese Sera äuszerst geringe Mengen der angedeuteten Substanzen enthalten, die ikterischen Sera dagegen grosze Mengen? Wir können diese Frage nicht beantworten, erinnern aber an den früher mitgeteilten Versuch, bei welchem eine 5 Minuten dauernde Erhitzung der Galle zur Folge hatte, dasz die direkte Reaktion nur noch verzögert und unvollständig eintrat.

Vorläufig glauben wir zu folgender Schluszfolgerung berechtigt zu sein: Das Bilirubin derjenigen Sera, welche eine (schnell eintretende) positive, direkte Diazoreaktion geben, rührt von einer Resorption der Galle her, welche die Folge einer mechanischen Stauung war, durch eine Verlegung der Gallenwege veranlaszt. Ist in einer serösen, Gallenfarbstoff enthaltenden Flüssigkeit die direkte Reaktion negativ (oder findet sie sehr verzögert statt), dann ist das Bilirubin anhepatisch gebildet oder infolge einer funktionellen Störung der Leberzellen in das Serum gelangt.

Die verschiedenartige Kuppelung mit Diazoniumsalzen ist nicht der einzige Unterschied zwischen den beiden genannten Bilirubinarten.

Wenn man nämlich ein Blutserum, das eine direkte Kuppelung gibt, mit Alkohol fällt, dann zeigt das Eiweiszpräzipitat eine sehr starke Adsorption des Gallenfarbstoffs.

Das Eiweiszpräzipitat von Sera, die keine direkte, sondern nur eine indirekte Kuppelung geben, adsorbiert entweder keinen oder jedenfalls viel weniger Farbstoff.

Ferner haben wir früher schon gesehen, dasz Bilirubin, welches direkte Kuppelung gibt, offenbar schneller zu Biliverdin oxydiert wird als das zur direkten Reaktion unfähige Bilirubin, sowohl beim Stehen an der Luft, als beim Kochen mit Natronlauge (Methode von v. Fürth, s. § 2, S. 12), als endlich bei der Verdampfung einer chloroformigen Lösung, wie wir das bei der Bereitung der Bilirubinkristalle erfahren haben (s. § 3, S. 24).

Zwischen den beiden Bilirubinmodifikationen haben wir also drei Unterschiede gefunden:

Verschiedenes Verhalten bei der Kuppelung mit Diazoniumsalzen.

Verschiedene Adsorption durch Eiweiszpräzipitate.

Verschieden schnelle Oxydation.

IV. KAPITEL.

Kritik der kolorimetrischen quantitativen Schätzung des Bilirubins in eiweiszreichen Flüssigkeiten.

Wir können nunmehr dazu übergehen, die im Vorhergehenden beschriebene kolorimetrische Schätzung des Bilirubins auf ihre Brauchbarkeit zu untersuchen.

Allgemein gesprochen, stehen uns bei der Beurteilung einer Methode quantitativer chemischer Analyse zwei Mittel zur Verfügung:

a. Man kann nachprüfen, ob die mittels der genannten Methode vorgenommenen Analysen ein richtiges und genaues Resultat ergeben;

b. man kann die Grundlagen der Methode einer kritischen Besprechung unterziehen.

Es ist wünschenswert, beide Mittel anzuwenden.

---

§ 8. *Die Richtigkeit der mittels der beschriebenen Bilirubinbestimmung erhaltenen Resultate.*

In Wasser gelöstem Hühnereiweisz wurden verschiedene, genau abgewogene Mengen Bilirubin zugesetzt. Alsdann wurde der Bilirubingehalt dieser Lösungen ermittelt. Das gleiche wiederholten wir mit sehr bilirubinarmem Serum, welchem wir bekannte Mengen Bilirubin zusetzten.

Die nach unsrem Verfahren erhaltenen Werte stimmten mit den berechneten Zahlen mit genügender Genauigkeit überein.

Es würde jedoch irrig sein, aus einer an einer künstlich bereiteten Bilirubinlösung vorgenommenen Kontrolle zu schliessen, dasz deshalb die Methode auch bei der Bestimmung der Gallenfarbstoffe in den Blutsera genaue Resultate ergeben müszte. Wir haben ja im vorigen Kapitel gesehen, dasz ein geringer Strukturunterschied zwischen dem chemisch reinen und den sich in den verschiedenen Sera oder in der Galle befindlichen Gallenfarbstoffen bestehen musz. Ferner haben wir es im Falle der natürlichen, Bilirubin enthaltenden Sera mit viel komplizierteren Verhältnissen zu tun als bei der Be-

stimmung dieser Substanz in einer künstlichen Lösung. Wir haben schon gesehen, dasz in der Galle und in gewissen Sera vielleicht Begleitsubstanzen vorkommen, die die Kuppelung beeinflussen. Auszerdem ist es wahrscheinlich, dasz das Bilirubin im Serum ganz oder teilweise an Eiweisz gebunden vorkommt. Wir konnten es wenigstens weder durch Ultrafiltration noch durch Dialyse von den Eiweiszsubstanzen trennen. Beachtenswert in dieser Beziehung ist auch, dasz das Bilirubin durch Sättigung mit Ammonsulfat aus einem ikterischen Serum vollkommen entfernt werden kann. Es wäre also sehr wohl möglich, dasz eine Methode, die in einer künstlichen Bilirubinlösung gute Resultate ergibt, für die Bestimmung der Gallenfarbstoffe im Blutserum unzulänglich wäre.

Es wäre also erwünscht, den Bilirubingehalt der Sera auch noch auf andere Weise zu bestimmen, um so die Methode durch ein anderes, sicheres und genaueres Verfahren zu kontrollieren. Leider ist dies nicht möglich, weil es keine einzige andere zuverlässige Methode zur quantitativen Bestimmung des Bilirubins gibt.

Um uns wenigstens einigermaszen über den Wert unsrer Bestimmungen zu orientieren, haben wir die Farbe der Flüssigkeiten als allereinfachste Kontrolle zu benutzen versucht, und zwar auf folgende Weise.

Die Farbe einer Kaliumbichromatlösung in Wasser von 1 : 3800 stimmt ziemlich genau überein mit derjenigen einer neutralisierten Bilirubinlösung von 1 : 200.000. Nun kann man den Bilirubingehalt eines Serums zu bestimmen versuchen, indem man dieses so lange mit Wasser verdünnt, bis seine Farbe derjenigen der Kaliumbichromatlösung gleich geworden ist. Hat man es mit bilirubinarmen Lösungen zu tun, dann wird man natürlich die Chromatlösung verdünnen. Man liest die Farbe direkt oder im Kolorimeter ab.

Wenn man auf diese Weise eine grosze Anzahl Sera untersucht, dann zeigt sich, dasz ihre Farben sehr stark von einander und von der Vergleichsflüssigkeit abweichen; so stark, dasz von einer einigermaszen genauen kolorimetrischen Bestimmung keine Rede sein kann. Zum Entstehen dieser Farbenunterschiede wirken verschiedene Einflüsse mit: vermutlich wird die Farbe der Bilirubinlösung vom Milieu (Alkaligehalt, Begleitsubstanzen), vielleicht durch die Bindung beeinfluszt.

Vor allem aber ist es wichtig, dasz neben dem Bilirubin oft noch allerlei andere Farbstoffe vorkommen, wie Lutein, Haematin, vielleicht zuweilen Urobilin, ein oder das andre Mal auch wol kleine Mengen Biliverdin, möglicherweise noch andre, uns unbekannte Farbstoffe. Der Unterschied im Farbenton ist jedenfalls, wie gesagt, Ursache, dasz man einigermaszen genaue kolorimetrische Bestimmungen in dieser Weise nicht vornehmen kann. Das Vorkommen begleitender Farbstoffe (man denke vor allem an das Lutein) hat überdies zur Folge, dasz man auch in den Fällen, in welchen die Vergleichung mit dem Stammfarbstoff dem Farbenton nach recht wohl möglich ist, den gefundenen Wert dennoch nicht immer ganz auf Rechnung des Bilirubins setzen darf.

Untersuchten wir aber Sera, welche keine grosze Mengen andrer Farbstoffe enthielten (namentlich Lutein und Haematin) und gaben wir uns mit annähernden Schätzungen — und eine andre Möglichkeit existiert nicht — zufrieden, dann fanden wir, dasz die Bestimmungen, die wir lediglich durch die Betrachtung der Farbe der Sera, und die, welche wir bei Anwendung unsrer Methode erhielten, in sehr befriedigender Weise übereinstimmten.

---

§ 9. *Besprechung einiger der Methode anhaftenden Fehler.*

A. *Der Farbenton der Azokörper.*

Die Kolorimetrie gibt nur dann genaue Resultate, wenn die zu vergleichenden Flüssigkeiten klar und ihre Farbentöne gleich sind.

Eine fast neutrale Azobilirubinlösung ist rot, ganz gleich, ob man sie aus Bilirubin oder aus bilirubinhaltendem Serum hergestellt hat. Eine saure Lösung wird nach und nach blauviolett.

Man bekommt also eine mehr blau gefärbte Flüssigkeit, wenn man zu viel (Säure enthaltende) Diazoniumlösung zugesetzt oder zu lange mit dem Ablesen gewartet hat. Durch Hinzufügen eines Tropfens alkoholischem Ammoniak wird die Farbe wieder rein rot.

Ist die Farbe der Flüssigkeit gelb statt rot, so ist damit gesagt, dasz die Reaktion noch nicht beendet ist, falls man nicht zu wenig Reagenz hinzugesetzt hat.

Im Messbereich des Kolorimeters braucht man nicht mehr als $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Vol. Reagenz.

Eine eventuelle Trübung kann durch Erwärmen oder (besser) durch Hinzufügung eines Tropfens Aether oder noch besser durch etwas Alkohol beseitigt werden, wie schon vorher (§ 1, S. 10) erwähnt wurde.

In wenigen Sekunden ist die Reaktion beendet und hat die Farbe ihre maximale Intensität erreicht. Es empfiehlt sich immer, die Ablesung nach einigen Minuten zu wiederholen.

Etwaige andre Stoffe, die sich in saurer Lösung mit einem Diazoniumsalz färben, sind uns nicht bekannt.

B. *Einflusz des Luteins.*

Es ist ein Fehler, dasz bei unsrer Arbeitsweise das Lutein in der Lösung bleibt und folglich seine gelbe Farbe sich mit der Farbe des Azokörpers vermischt.

Nun ist aber das Azobilirubin so farbkräftig (ein fast farbloses Serum gibt noch nach Verdünnung mit 2 Vol. Alkohol und Hinzufügung des Reagenz einen deutlichen Farbenumschlag), dasz der Fehler nur bei sehr kleinen Mengen Bilirubin und groszem Luteingehalt bemerkbar sein könnte.

C. *Einflusz der Adsorption des Bilirubins durch den Eiweisz-niederschlag.*

Ein viel wichtigerer Fehler wird dadurch herbeigeführt, dasz der Eiweiszniederschlag, welcher sich beim Zusetzen des Alkohols zum Serum bildet, Gallenfarbstoff adsorbiert. Wenn man nämlich ein Vol. Ikterusserum mit 2 Vol. Alkohol fällt und danach zentrifugiert, so sieht man, dasz das Präzipitat, auch bei nicht haemolytischen Sera, gefärbt ist, das eine Mal sehr wenig, ein ander Mal stärker, wieder ein ander Mal sehr stark. Ein Teil der gelben Farbe des Präzipitats rührt von dem gallenfarbstoffhaltigen Alkohol her, welcher zwischen den Eiweiszteilchen haften bleibt; diesen Teil kann man durch Auswaschen entfernen. Ein groszer Teil ist aber an das Eiweisz-Präzipitat fest gebunden. Man kann noch einen kleinen Teil derjenigen Bilirubinmenge, welche von dem Eiweisz adsorbiert war, durch Auswaschen entfernen, aber der überwiegende Teil wird von dem Eiweiszpräzipitat mit solcher Hartnäckigkeit festgehalten, dasz es uns trotz langwieriger Versuche mittels

allerlei Extraktionsmittel und Kunstgriffe nicht gelungen ist, ihn dem Präzipitat zu entziehen.

Schon vorhin bemerkten wir, dasz in den verschiedenen Sera sehr verschiedene Mengen Bilirubin von dem Eiweiszpräzipitat adsorbiert werden. Bei genauerer Untersuchung stellte es sich heraus, wie wir bereits auf Seite 43 erwähnt haben, dasz die Sera sich auch in dieser Hinsicht in zwei Gruppen unterbringen lassen.

Mit andern Worten, es zeigte sich, dasz Pferdeserum und ebenso alle andern Sera der auf S. 36 erwähnten zweiten Gruppe ein Präzipitat geben, das nach dem Auswaschen wenig oder nahezu nicht gefärbt ist, während alle Sera von Patienten an Stauungsikterus, also alle Sera der ersten Gruppe, ein Präzipitat liefern, welches auch nach dem Auswaschen noch stark gefärbt erscheint.

Dieser Unterschied ist besonders auffallend, wenn man nebeneinander ein Pferdeserum und ein Stauungsikterusserum untersucht, das ebenso viel oder weniger Bilirubin enthält als das betreffende Pferdeserum.

Zum Nachweis dieses Unterschiedes zwischen den beiden Gruppen der bilirubinhaltenden Srae braucht man sich nicht mit der einfachen Vergleichung der Farbe beider Eiweisz-Präzipitate zu begnügen: wie wir nämlich bald genauer ausführen werden, ist es möglich, exakt nachzuweisen, dasz der von den Sera der zweiten Gruppe herrührende Eiweiszniederschlag keine nennenswerte Mengen Bilirubin zurückhält. Ebenso ist es möglich zu bestimmen, wie viel Bilirubin von einem Eiweiszpräzipitat der ersten Gruppe festgehalten wird.

Dieser Nachweis wird in folgender Weise erbracht.

Zuerst betrachten wir die Sera der zweiten Gruppe.

In einem Serum wird in der vorher beschriebenen Weise der Bilirubingehalt bestimmt; danach werden von demselben Serum eine Reihe Verdünnungen mit Wasser gemacht, jeder dieser Verdünnungen werden 2 Vol. Alkohol zugesetzt, darauf wird zentrifugiert und Diazoniumlösung zugesetzt. Je stärker das Serum verdünnt war, desto geringer ist das Eiweiszpräzipitat, welches man durch Zusatz von Alkohol erhält, und desto geringer ist auch die Menge Bilirubin, die adsorbiert werden kann. Bei Verdünnungen, die über ein gewisses Verhältnis hinaus gehen, z. B. 1 Vol. Serum auf 4 Vol. Wasser,

bildet sich nach Zusatz des Alkohols zwar noch eine Eiweisztrübung, aber diese löst sich bei Hinzufügung des Diazoniumreagenz völlig auf. In letzterem Falle ist also von Farbstoffadsorption, bezw. Bilirubinverlust, keine Rede mehr. Bildet sich bei nicht genügender Verdünnung noch ein geringes Eiweiszpräzipitat, so wird der eventuelle Adsorptionsfehler jedenfalls stark vermindert. Die folgenden Zahlen, die wir als Beispiele unsern Protokollen entnehmen, zeigen, dasz in der Tat für die Sera der zweiten Gruppe die Bestimmungen mit und ohne Verdünnung fast dieselben Werte ergeben und dasz also in diesen Fällen der Adsorptionsfehler auszer Betracht gelassen werden darf.

	Bilirubinwert	
	unverdünnt	verdünnt
Pferdeserum	3.6	3.75; 4.9
„	1.1	1.15
„	5.3	5.3 ; 5.4
Kyste-Flüssigkeit	10.2	10.2
Pleura-Exsudat	9.8	10.

Jetzt wenden wir uns zu den Sera der ersten Gruppe.

Um in einem Serum dieser Gruppe die Menge des von dem Eiweiszpräzipitat adsorbierten Bilirubins zu bestimmen, gehen wir auf dieselbe Weise vor als im vorigen Fall.

Der Unterschied zwischen dem Bilirubinwert, den wir bei der Reaktion mit unverdünntem Serum, und dem, welchen wir bei der Reaktion mit stark verdünntem Serum erhalten, gibt die Menge Bilirubin an, welche vom Präzipitat festgehalten war. Zugleich gibt, wie sich von selbst versteht, die Bestimmung im verdünnten Serum den wirklichen Bilirubingehalt an.

Im Falle der Sera dieser ersten Gruppe verfügen wir schlieszlich noch über ein zweites Verfahren, um ungehindert vom Eiweiszpräzipitat den Bilirubingehalt zu bestimmen.

Diese Methode beruht nämlich auf der in § 6 und 7 ausführlich besprochenen Eigenschaft dieser Sera, die direkte Reaktion (also ohne Zusatz von Alkohol) zu geben.

Ein solches Serum braucht man nur mit Wasser zu verdünnen und nach Hinzufügung der Diazoniumlösung kolorimetrisch zu untersuchen, um ungehindert durch irgend welches Präzipitat den wirklichen Bilirubingehalt kennen zu lernen.

	Bilirubinwert		
	unverdünnt (mit Alkohol)	verdünnt (mit Alkohol)	direkt (ohne Alkohol)
Blutserum von Ikterus	17.	27.	25.
Idem	9.3	24.	20.
Cholelithiasis	4.6	5.7	5.6
katarrhal. Ikterus	4.3	nicht bestimmt	5.
Karzinom der Gallenblase	23.	43.	37.
Hypertrophische Leberzirrhose	6.2	14.1	11.3
Gallensteine	2.7	3.	3.
infektiös. Ikterus	21.	52.	46.5
Stauungsikterus	7.1	10.	nicht bestimmt
Pankreas Karzinom	15.2	39.	30.
Idem	12.8	20.1	22.
Idem	17.	27.7	22.

Diese Tabelle gibt Anlasz zu folgenden Betrachtungen:

a. In allen Fällen dieser Gruppe bleibt Bilirubin im Eiweiszpräzipitat zurück, im allgemeinen desto mehr, je reicher das Serum an Gallenfarbstoff ist.

b. Eine Vergleichung der zweiten und dritten vertikalen Spalte zeigt, dasz die durch die Verdünnungsmethode mit und ohne Zusatz von Alkohol erhaltenen Werte ziemlich gut mit einander übereinstimmen. Wir haben den Grund des Unterschiedes nicht ausfindig zu machen gesucht, eben weil er im allgemeinen nicht sehr beträchtlich war. Es ist möglich, dasz die Farbenintensität des Azofarbstoffes in alkoholischer Mitte gröszer ist als in wässeriger Lösung.

V. KAPITEL.

Quantitative Bestimmungen.

§ 10. *Der Bilirubingehalt des Blutserums in physiologischen Verhältnissen.*

In § 1 haben wir mitgeteilt, dasz der Bilirubingehalt des Serums gesunder Menschen ziemlich starken Schwankungen unterliegt. Bei der überwiegenden Mehrzahl finden wir Werte von 1 : 400.000 bis 1 : 250.000. Dabei scheint jedes Individuum, solange es gesund ist, einen ziemlich konstanten Serumbilirubinwert zu besitzen. Nach GILBERT [1]) würde im Hungerzustand der Bilirubinspiegel ein wenig steigen.

Ziemlich häufig trifft man Personen an, deren Serum viel reicher an Bilirubin ist, als mit den soeben genannten Werten übereinstimmt. Bei ihnen findet man Zahlen wie 1 : 80.000, 1 : 90.000 und dergleichen. Diese Menschen sind in jeder Hinsicht vollkommen gesund, weshalb wir den Zustand mit dem Namen „physiologische Hyperbilirubinaemie" bezeichnen möchten. Bei den meisten von ihnen findet man im Urin keine Gallenfarbstoffe und kein Urobilin, die Milz ist nicht vergröszert. Die Resistenz der Blutkörperchen gegenüber schwachen Kochsalzlösungen ist nicht vermindert. Gewöhnlich kennzeichnen sich diese Menschen durch eine ein wenig gelbliche Hautfarbe, wenigstens durch ein dunkleres Kolorit als es der Mehrzahl der gesunden Menschen eigen ist. GILBERT [2]) hat bereits diese Fälle vollkommen zutreffend beschrieben und ihnen den Namen cholémie simple familiale gegeben. In der Tat sieht man diesen Zustand oft bei mehreren Kindern aus ein und derselben Familie. Es macht den Eindruck, alsob diese Zustände etwas häufiger bei der jüdischen Rasse vorkämen.

Bei einzelnen dieser Personen, die sich übrigens völlig gesund fühlten, fanden wir eine etwas vergröszerte Milz und im

---

[1]) GILBERT et HERSCHER, Sur les variations de la cholémie physiologique, Presse médicale, 1906, No. 27.

[2]) GILBERT et LEREBOULLET, C. R. Soc. Biol. 1905, Bd. LVIII, S.937 u. 1007.

Urin Urobilin oder dessen Mutterstoff. Der Widerstand der roten Blutkörperchen war aber normal und sie enthielten keine sogenannte vital färbbare Körnchen. Die Vermutung, dasz solche Personen gewissermaszen einen Uebergang zwischen der physiologischen Hyperbilirubinaemie und dem haemolytischen Ikterus bilden, liegt auf der Hand.

Es gibt einen Zeitabschnitt des Lebens, in welchem jeder Mensch einen hohen Serumbilirubinwert hat, der folglich gleichfalls den Namen der physiologischen Hyperbilirubinaemie verdient. Schon vor mehreren Jahren haben wir uns mit der Untersuchung des gelben Farbstoffs im Serum der Neugeborenen beschäftigt. Dabei fanden wir, dasz das Serum des Nabelstranges immer viel stärker gelb gefärbt ist als das Serum normaler Erwachsener. Entnimmt man der Mutter zur Zeit der Niederkunft ein wenig Blut und vergleicht man die Farbe dieses Serums mit der des Nabelstrangblutes des gleichen Falles, dann ist letzteres ausnahmslos intensiver gefärbt als das mütterliche Serum. Hieraus folgt mit groszer Wahrscheinlichkeit, dasz in dem Foetus selbst eine intensive Bildung des gelben Farbstoffes (wir dürfen jetzt annehmen, dasz er Bilirubin ist) stattfindet. In derselben Zeit untersuchten wir das Blutserum Neugeborener im Alter von 1 bis 10 Tagen (in der Entbindungsanstalt des Dr. DE SNOO in Rotterdam). Wir fanden dasz das Blutserum der Neurgeborenen immer intensiver gelb gefärbt war, als das der Mutter oder als das Serum von normalen Erwachsenen, mochten die Kinder an Gelbsucht leiden oder nicht. Die Intensität der gelben Farbe ist individuell einigermaszen doch nicht sehr verschieden. Bei älteren Kindern, etwa nach der zweiten Woche, stimmte die Farbe des Blutserums mit derjenigen des Serums normaler Erwachsener überein [1]).

Vor einiger Zeit hat ADA HIRSCH, die unsre oben erwähnte Abhandlung nicht kannte, ähnliche Untersuchungen angestellt, wobei sie zu völlig gleichen Ergebnissen gelangte. Ihre Untersuchung hat vor unsren älteren Studien den Vorteil voraus, dasz die Autorin den Bilirubingehalt der Sera quantitativ (nach unsrer

---

[1]) HYMANS VAN DEN BERGH en A. VAN WESTRIENEN. Feestbundel voor TREUB, 1912, S. 230.

Methode) feststellen konnte [1]). Die Resultate der Untersuchungen von HIRSCH ergeben folgendes:

1. Alle neugeborenen Kinder haben in ihrem Nabelstrangblut mehr Bilirubin als normale Erwachsene.

2. Der Bilirubingehalt des Blutserums bei der Geburt beträgt 1 : 30.000 bis 1 : 100.000. Der niedrigste Wert (1 : 160.000) ist höher als der hohe normale Wert bei Erwachsenen, falls man die Fälle der noch physiologischen Hyperbilirubinaemie (cholémie simple familiale) auszer Betracht läszt. Der höchste von HIRSCH erhobene Wert (1 : 30.000) stimmt, wie wir später sehen werden, mit demjenigen überein, welchen man bei intensivem Ikterus des Erwachsenen antrifft. Hieraus folgt also, dasz bereits im Uterus das Kind eine gröszere Menge Bilirubin im Serum enthalten musz als ältere Menschen. Im allgemeinen soll nun, nach der Ansicht von ADA HIRSCH, der Bilirubingehalt im Nabelstrangserum mit dem später auftretenden Ikterus parallel gehen. Wir fanden seiner Zeit, jedoch nur nach der Farbe des Serums urteilend, dasz im Gegenteil ein derartiger Zusammenhang im allgemeinen nicht besteht, und dasz manche Kinder, bei denen kein Ikterus zur Entwicklung kam, im Nabelstrangserum eben so viel Bilirubin enthielten als andre, welche Ikterus bekamen. Auch in den Tabellen von HIRSCH finde ich soviel Ausnahmen von der von ihr aufgestellten Regel, dasz ich die früher von VAN WESTRIENEN und mir selbst ausgesprochene Ansicht aufrecht erhalten zu dürfen glaube. Es scheinen uns aber weitere diesbezügliche Untersuchungen erwünscht.

Auszer im Nabelstrangserum hat HIRSCH auch im Blutserum Neugeborener in den ersten Tagen Bestimmungen vorgenommen. Dabei fand sie, dasz der Bilirubingehalt während der ersten 12 Stunden schnell stieg, um am zweiten oder dritten Tag sein Maximum zu erreichen. Ikterische kinder blieben nun während der Dauer des Ikterus auf diesem hohen Werte stehen, während ikterusfreie Kinder, oder solche mit sehr leichtem Ikterus, zwar dieselbe Steigung der Kurve, danach aber ein schnelles Fallen bis auf sehr niedrige Werte aufwiesen. Aus all diesem dürfen wir die folgenden Schlüsze ziehen:

---

[1]) ADA HIRSCH, Verhandlungen d. 30en Vers. d. Gesellsch. f. Kinderheilk., Wien, 1913 und: Zeitschr. f. Kinderheilkunde 1913, S. 196.

Bei jedem Kind besteht bereits bei der Geburt eine physiologische Hyperbilirubinaemie.

Der abnorm hohe Bilirubingehalt stammt nicht vom mütterlichen Blut her, sondern ist von fötalem Ursprung.

Ihre Intensität ist verschieden und steht nicht konstant in einem direkten Zusammenhang mit dem Umstande, ob später Ikterus neonatorum eintritt oder nicht.

Während der ersten 12 Stunden nach der Geburt und auch noch während der beiden ersten Lebenstage steigt der Bilirubingehalt stark.

Bei einigen Kindern sinkt danach der Bilirubingehalt des Blutserums sehr schnell; diese bekommen keinen Ikterus.

Bei anderen Kindern bleibt der Bilirubingehalt während einiger Tage hoch. Dies sind die Kinder mit Ikterus neonatorum.

Zu fast gleichen Ergebnissen gelangte in einer wichtigen Arbeit ARVO YLPPÖ [1]); dieser bestimmte das Bilirubin auf spektrophotometrischem Wege.

---

§ 11. *Hyperbilirubinaemie beim Stauungsikterus.*

Wie nicht anders zu erwarten ist, findet man bei jedem klinisch deutlichen Ikterus einen erhöhten Bilirubingehalt des Blutserums. In Fällen von intensivem Ikterus fanden wir Werte bis zu 1 : 4000. Was dies bedeuten will, wird man besser beurteilen können, wenn man bedenkt, dasz wir in menschlicher Galle (durch Hepaticus-Drainage einige Tage nach Gallensteinoperation erhalten) mittlere Werte von 1 : 3000 bis 1 : 4000 fanden.

Unter Hautikterus versteht man eine, durch Gallenfarbstoff hervorgebrachte, gelbe Farbe der Haut (resp. der Schleimhäute). Es ist leicht einzusehen, dasz es nicht die gelbe Farbe des Blutplasmas ist, welche diese Gesichtswahrnehmung veranlaszt. Wenn man nämlich bei einem Ikteruskranken die Haut mittels eines gläsernen Gegenstandes (Plessimeters) anaemisch macht und sie durch das Glas betrachtet, bleibt die gelbe Farbe be-

---

[1]) ARVO YLPPÖ, Zeitschr. f. Kinderheilk. 1913, Bd. IX, S. 208.

stehen. Wie bekannt beruht der Hautikterus darauf, dasz der gelbe Farbstoff oder vielleicht ein Zersetzungsprodukt desselben sich in den Gewebselementen abgesetzt hat.

Das klinisch-diagnostische Interesse des Stauungs-Ikterus liegt darin, dasz er eine Verlegung der Gallenwege anzeigt, die das Ueberströmen der gebildeten Galle in das Blutserum veranlaszt. Das wesentliche und praktisch wichtige ist also, das Uebertreten der Galle ins Blut festzustellen. Mann nimmt gewöhnlich stillschweigend an, dasz das Vorhandensein von Galle im Blut und die gelbe Farbe der Haut unveränderlich mit einander verbunden seien, sodasz das Ueberflieszen der Galle aus der Leber ins Blut ohne weiteres an der gelben Farbe der Haut und der Schleimhäute zu erkennen sei. Je nachdem man diese gelbe Farbe wahrnimmt oder nicht, schlieszt man auf das Vorhandensein oder das Nichtvorhandensein von Ikterus, also auf Uebertreten oder auf Nichtübertreten von Galle ins Blut. Dasz man in der Klinik gewöhnlich so urteilt, ist verständlich. Am Krankenbette ist es nützlich und oft, selbst auf Kosten der Genauigkeit, sogar notwendig, diejenigen Untersuchungsmethoden zu benutzen, welche am leichtesten zu beurteilen und am schnellsten anzuwenden sind. Es ist jedoch nicht gestattet, bei wissenschaftlichen Untersuchungen das grobe und unzuverlässige Kennzeichen der gelben Hautfarbe für ausreichend anzusehen, um daraus auf das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von Ikterus zu schlieszen. Und gewisz genügt es nicht bei Hunde-Experimenten lediglich nach den Sclerae zu sehen, um zu entscheiden, ob ein experimenteller Eingriff Ikterus hervorgerufen habe oder nicht.

Wir haben schon früher darauf hingewiesen (S. 2) dasz, damit es beim Menschen durch Gallenstauung zu Gewebsikterus kommt, mehrere Bedingungen erfüllt sein müssen.

1. Musz nicht nur Gallenfarbstoff aus der Leber ins Blut getreten sein, sondern die Konzentration des Bilirubins im Serum musz einen bestimmten Wert überschritten haben.

2. Musz das bilirubinreiche Serum während einiger Zeit mit den Geweben in Berührung gewesen sein.

3. Müssen vielleicht noch unbekannte Faktoren mitgewirkt haben.

Es ist erwünscht, diese drei Bedingungen einer näheren Besprechung zu unterziehen.

1. Erst dann tritt Gewebsikterus ein, wenn die Bilirubinkonzentration im Serum eine bestimmte Schwelle überschritten hat.

Wir haben in § 3 ausführlich dargetan, dasz man in jedem normalen menschlichen Serum Bilirubin nachweisen kann, wenn man nur eine hinreichend empfindliche Methode bei der Untersuchung anwendet. Gewöhnlich ist der Bilirubinwert des Serums niedrig, in anderen Fällen ist er beträchtlicher. In den früher genannnten Fällen physiologischer Hyperbilirubinaemie (von der Hyperbilirubinaemie der Neugeborenen abgesehen) ist er sogar ziemlich bedeutend (bis 1 : 90.000). Dennoch ist bei solchen Personen von einem richtigen Ikterus keine Rede. Die Menschen mit solchen hohen Werten mögen ein etwas eigenartiges Kolorit haben: dasz sie an Ikterus leiden, wird kein Mensch behaupten und im Urin findet man kein Gallenpigment.

Es liegt also auf der Hand nachzuforschen, ob nicht für das Zustandekommen von Gewebsikterus mit Bilirubinurie eine die genannten Werte noch übersteigende Farbstoffkonzentration im Serum nötig ist. Diese Vermutung ist um so berechtigter, als wir von verschiedenen Substanzen wissen, dasz sie von gesunden Nieren erst dann ausgeschieden werden, wenn ihre Konzentration im Blutserum eine gewisse Grenze — den Schwellenwert — überschreitet; dieser Schwellenwert variiert für ein und dieselbe Substanz bei verschiedenen gesunden Personen verhältnismäszig nur wenig.

So scheint das Kochsalz nur dann mit dem Urin ausgeschieden zu werden, wenn die Konzentration im Blutserum 0.56 % überschreitet. Glukose geht im allgemeinen in den Urin erst über, wenn der Blutzuckergehalt höher als 1.6 bis 1.8 $^0/_{00}$ beträgt. Für andere Substanzen, wie Harnstoff, hat man einen derartigen Schwellenwert nicht feststellen können. Sulfate müssen einen auszerordentlich niedrigen Schwellenwert haben, da man ja immer im Urin gröszere Mengen Sulfate findet, während im Blute nur Spuren derselben nachzuweisen sind.

Wir haben also untersucht, ob auch für die Bilirubinausscheidung in den Urin ein Schwellenwert nachweisbar sei. *In der Tat stellte sich heraus, dasz dies beim Menschen der Fall ist. Eine ziemlich grosze Erfahrung hat uns gelehrt, dasz der genannte Schwellenwert etwa 1/50.000 beträgt.* Enthält das Blut weniger Bilirubin, so geht der Farbstoff also nicht in den

Urin über. Erreicht die Konzentration den genannten Wert, oder ist sie gar gröszer, dann sind im Urin, von wenigen Ausnahmen abgesehen, stets Gallenpigmente mittels der gewöhnlichen Reaktionen nachzuweisen.

Bei einem Bilirubingehalt des Serums unter 1 : 50.000 haben wir bei zahlreichen Fällen von Stauungsikterus niemals Gallenfarbstoff im Urin nach HUPPERT-SALKOWSKI nachweisen können. Erhielten wir im Urin eine positive Reaktion auf Gallenpigment und bestimmten gleichzeitig den Bilirubingehalt des Serums, so fanden wir darin immer 1/50.000 oder mehr. Nur in einem Falle von sogenanntem katarrhalischem Ikterus enthielt einmal das Blut 1 : 10.000, während im Urin kein Gallenfarbstoff nachweisbar war. Ueber eine andre Ausnahme werden wir später noch zu sprechen haben. Bei zahlreichen anderen Patienten mit anklingendem Ikterus (katarrhalischer Ikterus, Retentionsikterus durch Steine, haemolytischer Ikterus, Zirrhose) haben wir zu verschiedenen Zeiten das Blut und den Urin untersucht. Dabei fand sich die erwähnte Regel ohne Ausnahme bestätigt. Ferner stellte sich dabei heraus, dasz bei ungefähr demselben Schwellenwert des Bilirubins im Serum, bei welchem der Gallenfarbstoff in den Urin übertrat, auch zum ersten Mal ein deutlicher Ikterus wahrnehmbar wurde.

Es ist dabei jedoch zu bemerken, dasz das Erkennen eines eben deutlichen Gewebsikterus selbstverständlich dem subjektiven Ermessen oder vielmehr der Willkür in weit gröszerem Masze ausgesetzt ist als der Nachweis von Bilirubinspuren im Urin mittels genauer und empfindlicher Methoden. Wir legen deshalb nur Wert auf die Ermittelung des Schwellenwertes des Serumbilirubins mit Bezug auf die Ausscheidung des Farbstoffes in den Urin.

Ganz anderen Verhältnissen begegnet man beim Hunde. Es ist bekannt, dasz es bei diesem Tiere sehr leicht zur Bilirubinausscheidung im Harn kommt. Schon eine kurze Hungerzeit genügt dazu. [1]) In solchem Falle konnten wir aber, während Bilirubinurie beobachtet wurde, im Blutserum kein Bilirubin nachweisen. Es musz also der Schwellenwert für die Ausscheidung des Bilirubins durch die Nieren beim Hunde auszerordentlich

---

[1]) Siehe hierüber die klassische Arbeit von QUINCKE in VIRCHOW's Archiv, Bd. 95, 1884, S. 125, und weiter STADELMANN, der Icterus, S. 114.

tief liegen, wenn hier nicht andere, noch nicht zu übersehende Verhältnisse vorliegen.

2. Erst dann kommt es zu klinisch erkennbarem Gewebsikterus, wenn die Gewebe während einiger Zeit mit dem bilirubinhaltigen Serum in Berührung gewesen sind.

Dem Anschein nach kommt es zur Ausscheidung von Gallenfarbstoff in den Urin, sobald die Konzentration des Pigments im Blutserum den Schwellenwert überschritten hat. Hautikterus dagegen entsteht erst, nachdem die Gewebselemente während einiger Zeit von dem bilirubinreichen Serum umspült worden sind. Folgender Fall dürfte geeignet sein, die praktische Bedeutung dieser Befunde zu beleuchten.

L, 52 jähriger Mann, wurde am 1. X. 1913 in die Klinik gebracht mit heftigen Schmerzen im rechten Hypochondrium. Der Bauch war aufgetrieben, andauerndes Erbrechen, Kollaps. Eine sichere Diagnose war unmöglich. Nach langer Beratung wurde eine Pancreatitis haemorrhagica angenommen, besonders weil der Harn während der ersten beiden Beobachtungstage stark reduzierte. Da die bedrohlichen Symptome bald zurückgingen, wurde mit chirurgischem Eingreifen gewartet. Drei Wochen nach der Aufnahme Laparotomie, wobei eine vereiterte Echinococcuscyste gefunden wurde. Der Harn dieses Mannes wurde wiederholte Male auf Gallenpigmente untersucht. Eines Tages wurde Gallenfarbstoff gefunden: der vorher und nachher ausgeschiedene Urin war gallenfarbstoffrei. Sobald Gallenfarbstoff im Urin gefunden wurde, bestimmten wir auch den Bilirubingehalt des Serums, dieser betrug 1 : 55.000. Dieser Mann hat nie eine Spur von Ikterus gehabt.

Offenbar hatte in diesem Falle der Bilirubingehalt des Serums einen Augenblick den Schwellenwert überschritten, sodasz es zum Hinübertreten von Gallenfarbstoff in den Urin kommen muszte; darauf ist er aber wieder schnell heruntergegangen. Die Gewebe sind nur während kurzer Zeit von stark bilirubinhaltigem Serum umspült worden, und haben nicht die Zeit gehabt, den Farbstoff aufzunehmen; darum ist ein richtiger Gewebsikterus nicht entstanden.

Andererseits werden in dem Falle, wo die Gewebe während einiger Zeit von Blut, das viel Bilirubin enthält, umspült werden, und wo dann der Bilirubingehalt des Serums schnell her-

untergeht, die Gewebe den Gallenfarbstoff noch während einiger Zeit festhalten. Das sahen wir z. B. in folgendem Falle von hämolytischem Ikterus.

Tine V., 19 Jahre alt, ein zartes, infantiles Mädchen, klagt über Schmerzanfälle, die sie im Epigastrium, manchmal auch im rechten und im linken Hypochondrium lokalisiert. Sie hat eine blasse, etwas gelb tingierte Gesichtsfarbe. Nach den Schmerzanfällen, die stets von leichter Temperatursteigerung begleitet sind, nimmt die Blässe sowie die ikterische Farbe zu, die Sclerae sind dann immer deutlich gelb.

Die Leber ist gerade zu fühlen, die Milz stark vergröszert. Während der Schmerzanfälle nimmt die Schwellung der Milz noch zu.

Im Urin ist, auszer bei den Anfällen, niemals Gallenfarbstoff nachzuweisen, doch enthält er immer reichlich Urobilin. Während der Anfälle findet man in dem in stündlichen Portionen aufgefangenen Urin — wenigstens in einigen Portionen — immer ein wenig Bilirubin.

Das Blut enthält 2.700.000 rote Blutkörperchen und 60 % Hämoglobin (nach Sahli), Färbeindex: 1.1. Zahl der weiszen Blutkörperchen 11200.

Im mikroskopischen Präparate zahlreiche granulierte Erythrozyten (sogenannte vitale Färbung nach Widal). Die Resistenz der roten Blutkörperchen gegen verdünnte Kochsalzlösungen hat stark abgenommen: die minimale Resistenz beträgt 0.525, die maximale 0.375.

Wenn die Patientin frei von Anfällen war, fanden wir im Blutserum einen Bilirubinwert von 1 : 62000; während der Anfälle war dieser Wert etwas höher.

Wir glauben annehmen zu dürfen, dasz in diesem Falle von hämolytischem Ikterus dauernd ein vermehrter Blutzerfall stattfand Infolgedessen wurde fortwährend eine abnorm grosze Menge Bilirubin gebildet, und deshalb wurde der Bilirubingehalt des Serums gröszer als der normale Durchschnittswert. Er hält sich aber unter dem Schwellenwert, sodasz es nicht zur Bilirubinurie kommen kann.

In ziemlich regelmässigen Intervallen treten aber Anfälle mit erhöhter Blutdissolution ein, die einige Zeit anhalten. Während eines solchen Anfalls wird eine noch gröszere Menge

Bilirubin gebildet, der Bilirubingehalt des Blutes überschreitet den Schwellenwert. Jetzt wird — also während einiger Zeit — Gallenfarbstoff in den Urin ausgeschieden, und, wenn der Anfall nicht gar zu kurze Zeit anhält, tritt Gelbfärbung der Gewebe ein. Ist es aber einmal zum eigentlichen Ikterus gekommen, so wird der Farbstoff von den Geweben festgehalten, auch wenn der Bilirubingehalt des Blutes wieder unter den Schwellenwert heruntergeht und folglich Bilirubin im Harn nicht mehr nachgewiesen werden kann. Folgen nun solche Perioden starken Blutzerfalls schnell aufeinander, so wird die gelbe Farbe der Gewebe niemals ganz verschwinden.

Es scheint uns keinem Zweifel zu unterliegen, dasz der oben kurz beschriebene Fall von hämolytischem Ikterus sich in dieser Weise verhalten hat. Damit ist natürlich keineswegs gesagt, dasz auch andere derartige Fälle sich in gleicher Weise verhalten müszten, und dasz der hier gegebenen Erklärung des acholurischen Ikterus eine allgemeine Bedeutung zukommen müsse.

Für den Stauungsikterus scheint aber — bei normalem Nierenparenchym — das Hinübertreten vom Bilirubin in den Harn vor allem von seiner Konzentration im Serum abzuhängen.

3. Vielleicht müssen zum Zustandekommen eines Gewebsikterus noch andre, unbekannte Faktoren mitwirken.

Es ist auffallend, dasz die gelbe Hautfarbe eines Falles von perniziöser Anaemie mit hohem Serumbilirubinwert weniger intensiv und andrer Tönung ist, als die Farbe eines sehr leichten an- oder abklingenden Stauungsikterus. Es scheint uns nicht unmöglich, dasz die Affinität der Gewebe für die Bilirubinmodalität, die sich beim Stauungsikterus im Serum vorfindet, verschieden sei von der Affinität zu der anderen Modifikation des Bilirubins. Oder aber, was für diese Auffassung keinen Unterschied macht, dasz im Serum des Stauungsikterus neben dem Bilirubin Begleitsubstanzen vorkämen, die als Beize wirken. Mit dieser unerwiesenen, somit rein hypothetischen Annahme wäre der früher erwähnte Unterschied zwischen beiden Bilirubinmodalitäten bezüglich ihrer Adsorption durch Eiweiszpräzipitate im Einklang.

VI. KAPITEL.

Lokale anhepatische Bilirubinbildung.

§ 12. *Einleitende Bemerkungen.*

Die Möglichkeit der Entstehung des Gallenfarbstoffes aus Haemoglobin auszerhalb der Leber kann nicht geleugnet werden. Schon die einfache klinische Beobachtung deutet darauf hin. Die gelbe Farbe, der bald das bekannte bunte Farbenspiel folgt, den farbigen Ringen der GMELIN'schen Reaktion nicht unähnlich, die man nach einer Hautblutung zu sehen bekommt, erregt schon den Gedanken an eine Umwandlung des Blutfarbstoffes in Gallenpigmente. Nicht weniger bedeutsam scheint uns die gelbe Farbe, welche das Augenweisz zeigt nach einer geringen subconjunctivalen Blutung. Vor vielen Jahren hat VIRCHOW [1]) nachgewiesen, dasz sich überall im Körper ein gelber von ihm Haematoidin genannter, Farbstoff aus dem Blute bilden kann. Insbesondere wies er in alten apoplektischen Herden im Gehirn die Haematoidinkristalle nach. Die Beobachtungen VIRCHOW'S wurden von zahlreichen Autoren bestätigt, und auch experimentell wurde die Umwandlung des Haemoglobins in Haematoidin beobachtet.

Einige Forscher, (wie LANGHANS, QUINCKE und viele anderen) spritzten geronnenes oder defibriniertes Blut unter die Haut oder in die Peritonealhöhle; andere machten ein ähnliches Experiment mit kristallisiertem Haemoglobin. Man konnte nach einigen Tagen an der Einspritzungsstelle Haematoidin in den Geweben nachweisen. JAFFÉ zeigte, dasz das Haematoidin als mit dem Bilirubin identisch angesehen werden musz, und QUINCKE spricht in seiner früher zitierten Arbeit in VIRCHOW'S Archiv sogar immer von Gallenfarbstoff statt Haematoidin. Die Möglichkeit einer anhepatogenen Bilirubinbildung kann also nicht bezweifelt werden, und es ist kaum verständlich, dasz ein so hervorragender Forscher wie G. HAYEM [2]) noch vor

---

[1]) Für Literatur über Haematoïdin siehe: STADELMANN, Der Icterus, Stuttgart, 1891, S. 45 u. folg.

[2]) G. HAYEM, Du sang et de ses altérations anatomiques, Paris, 1889. Derselbe: Sem. médic., 1908, S. 59 u. 122.

wenigen Jahren schreiben konnte, es finde eine Bilirubinbildung auszerhalb der Leber nirgends im Körper statt. Aber auch die Mehrzahl derjenigen Autoren, die eine anhepatische Gallenfarbstoffbildung anerkennen, legen auf diesen Prozess keinen groszen allgemein-pathologischen Wert. Die einen sind der Ansicht, es seien die auf diese Weise gebildeten Bilirubinmengen immer so unbedeutend, dasz sie gar nicht in Betracht kommen. Andere meinen, die Resorption sei zu langsam, oder (wie FISCHLER [1]) betont) die Gallenfarbstoffbildung auszerhalb der Leber geschehe zu langsam, als dasz es zum Ikterus kommen könnte.

In den letzten Jahren haben namentlich französische Autoren die anhepatische Bilirubinbildung studiert. CHASTENET DE GÉRY und FROIN [2]) haben beobachtet, dasz die serösen Flüssigkeiten von blutigen Pleura- und Peritonealexsudaten und von Lumbalpunktaten die GMELIN'sche Reaktion geben. SABRAZÈS und MURALTET [3]) wiesen in der Lumbalflüssigkeit bei Gehirnblutung Urobilin nach; bei demselben krankhaften Zustand beschrieb BARD [4]) eine gallenartige Farbe der Zerebrospinalflüssigkeit.

Auch MILIAN [5]) beschreibt das Vorhandensein von Gallenpigment und Urobilin in der Flüssigkeit des Haemothorax.

Insbesondere haben WIDAL und seine Mitarbeiter die anhepatische Bildung des Bilirubins und des Urobilins als eine wichtige und sicher erwiesene Tatsache dargestellt, während JEAN TROISIER diese Lehre durch schöne Beobachtungen und Untersuchungen bestätigt und erweitert hat. [6])

Wir selbst wurden durch unsere Untersuchungen über den Gallenfarbstoff im Blute und in anderen eiweiszreichen Flüssigkeiten dem Studium der lokalen Bilirubinbildung zugeführt.

Mit Hülfe der von uns ausgearbeiteten Methode haben wir die anhepatische Gallenfarbstoffbildung auch hinsichtlich der quantitativen Verhältnisse näher studiert.

---

[1]) FISCHLER, Physiologie und Pathologie der Leber, Berlin 1906.

[2]) CHASTENET DE GÉRY et G. FROIN, Rev. de Chirurg., 1905 (Zitiert nach TROISIER).

[3]) SABRAZÈS et MURALTET, C. R. Soc. de Biol., 1903, Bd. 55.

[4]) BARD, (Zitiert nach TROISIER).

[5]) MILIAN, in: Le liquide céphalo-rachidien, Paris 1904, (Zit. nach TROISIER).

[6]) GUILLAIN et TROISIER, Semaine médicale 1909, No. 12, S. 133.
J. TROISIER, Thèse de Paris, 1910.

§ 13. *Die anhepatische Bilirubinbildung in Exsudaten.*

Wir haben zahlreiche Exsudate und Transsudate aus der Brust- und der Bauchhöhle auf ihren Bilirubingehalt untersucht und gleichzeitig den Bilirubinwert des zugehörigen Blutserums ermittelt.

Jedes Exsudat und Transsudat ist mehr oder weniger intensiv gelb gefärbt. In allen diesen Fällen konnten wir mittels der Ehrlich'schen Reaktion Bilirubin nachweisen, und zwar war die Intensität der Reaktion der Stärke der Gelbfärbung proportional.

Obgleich wir keine genauen Eiweiszbestimmungen dieser Ergüsse angestellt und uns nur mit aproximativen Schätzungen (Esbach) begnügt, in manchen Fällen sogar einfach das spezifische Gewicht bestimmt haben, scheint uns festzustehen, dasz der Bilirubingehalt von nicht haemorrhagischen Ex- und Transsudaten mit dem Eiweiszgehalt im Groszen und Ganzen parallel geht. Diese Tatsache ist, allgemein betrachtet, nicht unwichtig. Eigentlich wäre ja zu erwarten, dasz das Bilirubin — ein Kristalloid — sich wie die anderen Kristalloide verhalten würde; also wie die Salze und nicht wie das Eiweisz.

Vielleicht darf man in diesem Verhalten eine weitere Stütze sehen für die Annahme, dasz das Bilirubin im Blutplasma und den anderen Körperflüssigkeiten nicht in freiem Zustande, sondern an Eiweisz gebunden, enthalten sei.

Der Bilirubingehalt der von uns untersuchten *Transsudate* war immer viel niedriger als derjenige des demselben Patienten entnommenen Blutes. Der Bilirubingehalt der von uns untersuchten *einfachen* (nicht haemorrhagischen) *Exsudate* war gewöhnlich dem des Blutes gleich oder etwas niedriger.

In *stark haemorrhagischen Flüssigkeiten* war der Bilirubingehalt stets höher (meistens beträchtlich höher) als derjenige des Blutes. Nur die Menge der in der Flüssigkeit enthaltenen roten Blutkörperchen schien für die Quantität des gebildeten Gallenfarbstoffs von Bedeutung zu sein. Ob aber der Ergusz von einem Falle von Tuberkulose oder von malignem Tumor der Pleura oder des Peritoneums stammte, oder aber ob es sich um einen traumatischen Ergusz handelte, schien ohne Bedeutung zu sein.

Auszer den aus unserer inneren Krankenabteilung zur Untersuchung kommenden Exsudaten und Transsudaten konnten wir durch die freundliche Mitwirkung von Professor Koch auch aus der chirurgischen Klinik über eine Anzahl hämorrhagischer Flüssigkeiten von verschiedener Herkunft verfügen: Flüssigkeiten aus Haematomen, haemorrhagischen Cysten, Presssaft von weichen Sarkomen, u. s. w.. In allen diesen Fällen wurde in diesen Flüssigkeiten ein höherer Bilirubingehalt gefunden als im Blutserum der betreffenden Patienten.

Hieraus darf man mit sehr groszer Wahrscheinlichkeit den Schlusz ziehen, dasz das in diesen Flüssigkeiten vorgefundene Bilirubin lokal, also anhepatisch, gebildet worden ist. Nür in einer Hinsicht würde man diese Schluszfolgerung noch in Zweifel ziehen können.

Es wäre denkbar, wenn auch äuszerst unwahrscheinlich, dasz der Gallenfarbstoff der blutigen Ergüsse doch noch aus dem Blutserum stammte, genau so wie es bei einfachen (nicht haemorrhagischen) Exsudaten und Transsudaten der Fall ist. Der Unterschied im Bilirubingehalt der haemorrhagischen Flüssigkeit und des Serums müszte bei dieser Annahme durch eine Eindickung infolge Wasserresorption erklärt werden.

Leichter als beim Menschen liesz sich durch das Tierexperiment diese Frage untersuchen.

Wie wir schon wiederholt erwähnten, enthält das Hundeblutserum normalerweise niemals nachweisbare Mengen von Bilirubin. Wird also bei einem Hunde durch die Einspritzung eines gewissen Quantums Blut ein künstliches Hämatom herbeigeführt, und findet man in der einige Tage später aus diesem Hämatom durch Punktion erhaltenen Flüssigkeit deutliche Mengen Bilirubin, so musz der Gallenfarbstoff lokal gebildet worden sein.

Im Anfang begegneten wir bei der Ausführung dieser Experimente gewissen Schwierigkeiten. Spritzten wir den Hunden unter die Haut der Extremitäten, oder am Bauche, oder auch in die Bauchhöhle Blut ein, so konnten wir bei einer Punktion nach 3 Tagen nichts mehr aspirieren. Offenbar erfolgt die Resorption auszerordentlich schnell und vollständig. Einige Male bildete sich (wohl durch das Lecken an der Injektionsstelle) ein Abszess.

Wir waren dieser Schwierigkeiten überhoben, seitdem wir

das Blut so tief wie möglich unter die Kopfhaut einspritzten. Die Resorption geschah an dieser Stelle viel weniger schnell, und nach einer Injektion von 50 bis 60 cm³ Blutkörperchen konnten wir nach 2 oder 3 Tagen regelmäszig durch Aspiration 5—10 cm³ zurückbekommen.

Für diese Injektionen benutzten wir Hunde-, Menschen- oder Pferdeblut. Da das Serum von Menschen und Pferden schon Bilirubin enthält, musz man natürlich vorher den roten Blutkörperchenbrei, den man einspritzen will, durch wiederholtes Auswaschen mit physiologischer Salzlösung von den letzten Spuren Serum befreien. Man würde sonst mit den Blutkörperchen gleichzeitig Bilirubin einspritzen. Auch wäre es möglich, dasz die roten Blutkörperchen selbst schon Bilirubin enthielten; wir haben darum die gut ausgewaschenen roten Blutkörperchen von Pferd und Mensch, ehe wir sie einspritzten, auf Bilirubin untersucht, konnten aber darin diesen Farbstoff nicht nachweisen. (S. übrigens § 5).

Unter Einhaltung dieser Vorsichtsmaszregeln haben wir wiederholt bei Hunden gut ausgewaschene rote Blutkörperchen unter die Kopfhaut eingespritzt. Nach 2 oder 3 Tagen punktierten wir das Hämatom. Dabei erhielten wir immer eine stark haemolytische Flüssigkeit. Zu 1 Teil dieser Flüssigkeiten wurden 2 Teile 96 proz. Alkohol zugesetzt und scharf zentrifugiert; immer war die überstehende Flüssigkeit gelb gefärbt und gab Bilirubinreaktionen. Die Intensität der gelben Farbe und, in Uebereinstimmung hiermit, die Intensität der Gallenfarbstoffreaktion war bei den verschiedenen Hunden verschieden. Bei einigen Hunden, bei denen mehrere derartige Injektionen gemacht wurden, war die Menge Bilirubin beim zweiten und bei den späteren Experimenten viel gröszer als bei dem ersten Versuch und stärker als bei anderen Hunden, die zum ersten Male eingespritzt waren.

Bei diesen Versuchen wurde gewöhnlich zu gleicher Zeit das Blut desselben Hundes aus einer Vene entnommen und auf Gallenfarbstoff untersucht. Während also die Punktionsflüssigkeit immer Bilirubin enthielt, konnte im peripheren Blutserum niemals Gallenpigment nachgewiesen werden.

Hiermit glauben wir mit Sicherheit nachgewiesen zu haben, dasz beim Hunde aus Blut, welches die Gefäszbahn verlassen hat, Bilirubin lokal gebildet wird, und wir kennen vorläufig

keinen Grund, der gegen eine Uebertragung dieses Befundes auf die menschliche Pathologie spräche.

Unsre Untersuchungen finden eine Bestätigung in Versuchen von WHIPPLE und HOOPER [1]). Die amerikanischen Forscher brachten ein sehr beachtenswertes Experiment zu Stande, indem sie bei Hunden den Blutkreislauf des Kopfes und der Lungen von dem der Leibeshöhle völlig trennten. Wurde nun Haemoglobin eingespritzt, so sahen sie dennoch Bilirubin im Blutserum erscheinen, welches also, unbeeinfluszt von der Wirkung der Leber, entstanden sein musste.

In einer anderen Versuchsreihe machten WHIPPLE und HOOPER bei einem Hund eine Fistel nach ECK und unterbanden gleichzeitig die Arteria hepatica. Wurde nun Haemoglobin eingespritzt, so erschien dennoch Gallenfarbstoff im Blut.

Obwohl diese Experimente von WHIPPLE und HOOPER gerade darum, weil sie technisch sehr schwierig und verwickelt sind und folglich zahlreiche Fehlerquellen einschliessen, vielleicht weniger beweiskräftig sind, als die einfachen von uns mitgeteilten Tatsachen, unterstützen sie dennoch unsre Schluszfolgerungen in befriedigender Weise.

Auf Grund aller Beobachtungen darf folgende allgemeine Regel aufgestellt werden:

Jedesmal, wenn beim lebenden Menschen Blut aus den Gefäszen austritt und sich zwischen die Gewebselemente oder in die Leibeshöhlen ergieszt, kommt es in kurzer Zeit an jener Stelle zur Bildung von Gallenfarbstoff.

Durch die quantitative Bestimmung des Bilirubingehalts dieser Flüssigkeiten gelangt man zu einer Vorstellung von den Mengen Gallenfarbstoff, die sich lokal gebildet haben. Wir wollen nur einzelne von unsren Beobachtungen als Beispiele anführen. Wie man sehen wird, sind die Mengen Bilirubin, die sich auszerhalb der Leber bilden, nichts weniger als unbedeutend.

I. Am 22 Oktober 1914 erhielten wir aus der chirurgischen Klinik 65 cm^3 Flüssigkeit, von einer Punktion eines Kniegelenks herrührend. Durch ein Trauma war die Kniescheibe gebrochen und hatte sich ein Haemarthros entwickelt.

Die Flüssigkeit war, nachdem wir sie durch Zentrifugieren von den Formelementen befreit hatten, braungelb gefärbt mit

---

[1]) WHIPPLE and HOOPER, Journ. of exper. Medicine. XVII. 613.

einem schwach roten Schimmer. Die spektroskopische Untersuchung ergab: sehr wenig Oxyhaemoglobin, deutlichen Methaemoglobinstreifen, viel Haematin.

Die quantitative Schätzung nach unsrer früher beschriebenen Methode ergab einen Bilirubingehalt von 1 : 23000. In der ganzen Flüssigkeitsmenge waren also ungefähr 3 Miligramm Gallenfarbstoff enthalten.

Das durch Punktion einer Armader erhaltene Serum enthielt sehr wenig Bilirubin, und wir dürfen annehmen, dasz somit in diesem Kniegelenk eine lokale Gallenfarbstoffbildung von nahezu 3 Milligramm stattgefunden hat.

II. Patient X leidet an Lungensarkom und hat ein groszes haemorrhagisches Pleuraexsudat. Der Bilirubingehalt in demselben beträgt 1 : 30.000. Der Bilirubingehalt des sogleich nach der Pleuraentleerung durch Aderlasz erhaltenen Blutes beträgt 1 : 360.000. Wenn wir die Menge der in der Pleura vorhandenen Flüssigkeit auf reichlich 3 L. schätzen dürfen, so werden sich in ihr also 100 Miligramm Bilirubin befunden haben, welche nahezu ganz lokal entstanden sein müssen.

III. Aus einem durch ein Trauma entstandenen subduralen Haematom wurden bei der Operation 150 cm³ blutige Flüssigkeit aufgefangen und unserm Laboratorium zugesandt. Die Flüssigkeit war stark haemolytisch. Spektroskopisch war neben den Streifen des Oxyhaemoglobins ein Methaemoglobinstreifen sichtbar. Ob Haematin in der Flüssigkeit enthalten war, konnte nicht festgestellt werden, weil die Stelle des charakteristischen Haemochromogenstreifens (560 $\mu\mu$) durch die Absorption des Oxyhaemoglobins verdunkelt war. Diese Flüssigkeit hatte einen Bilirubingehalt von 1 : 4000.

Nach Noël-Paton beträgt der Farbstoffgehalt der menschlichen Galle 0.4-1.3$^0/_{00}$, das ist also 1 : 2500 bis ungefähr 1 : 1000. Nehmen wir an [1]), der Inhalt einer normalen Gallenblase betrage 30-40 cm³, dann beherbergt ein Mensch in seiner Gallenblase eine Bilirubinmenge von 12 bis 40 Milligramm. Man sieht also, dasz unser Patient mit Lungensarkom, nach dieser Berechnung, etwa zwei bis achtmal so viel Bilirubin in seinem Exsudat mit

---

[1]) Nach Laederich, in: Landouzy-Bernard, Éléments d'anatomie et de physiologie médicales, 1913, S. 57.

sich herum trug als in seiner Gallenblase. Dabei musz man natürlich im Auge behalten, dasz der Vorrat in der Gallenblase stets abgeführt und auch stets wieder erneuert wird.

---

§ 14. *Unterscheidung einer bei einer Punktion durch Verwundung eines Gefäszes entstehenden Blutbeimischung von einem schon vorher haemorrhagischen Exsudat.*

Die lokale Gallenfarbstoffbildung gibt uns ein bequemes Mittel an die Hand, frische Blutergüsse von älteren zu unterscheiden. Solch ein Unterscheidungsmittel kann ab und zu willkommen sein. Es kommt bisweilen vor, dasz man bei der Punktion einer Körperhöhle eine blutige Flüssigkeit aufsaugt, bei welcher man im Zweifel ist, ob sie einer durch diese Operation herbeigeführten Verletzung — durch Anstechen eines Blutgefäszes — zuzuschreiben ist, oder ob die Flüssigkeit von Hause aus bluthaltig war. In folgender Weise kann man nun die beiden Zustände unterscheiden. Der Bilirubingehalt eines frischen Blutergusses wird nicht höher sein als derjenige des einer peripheren Ader entnommenen Blutes. Ein altes hämorrhagisches Exsudat ist immer reicher an Bilirubin als das Serum des zur selben Zeit entnommenen, strömenden Blutes. Man nimmt also 1 cm^3 des durch Venenpunktion erhaltenen Blutserums und 1 cm^3 des hämorrhagischen Exsudats. Man setzt jeder der beiden Flüssigkeiten 2 cm^3 96 proz. Alkohol zu und zentrifugiert. Einem gleichen Volumen jeder der beiden abpipettierten, klaren alkoholischen Flüssigkeiten setzt man $\frac{1}{4}$ Vol. frisch bereitetes Ehrlich'sches Diazoreagenz zu. Man vergleiche nach einigen Augenblicken die Farbe in den beiden Reagenzgläschen. Findet man in dem alkoholischen Extrakt des Exsudats einen höheren Bilirubingehalt als in dem des peripheren Blutserums, so kann man gewisz sein, dasz man es mit einem alten — d.h. älter als 1 oder 2 Mal 24 Stunden — hämorrhagischen Ergusz zu tun hat.

Gewöhnlich wird man sich mit einer noch einfacheren Probe begnügen können, welche darauf beruht, dasz Azeton die Eigenschaft hat, Eiweisz zu fällen und Bilirubin leicht zu lösen. Je 1 cm^3 haemorrhagisches Exsudat und defibriniertes Venen-

punktionsblut werden mit 2 cm^3 reinem (farblosem) Azeton vermischt. Das Azeton fällt das Eiweisz nahezu vollkommen. Man zentrifugiert (oder filtriert) und vergleicht die Intensität der gelben Farbe beider Flüssigkeiten.

Nur in dem Fall, wo man zu gleicher Zeit altes und frisches Blut aufsaugen sollte, würde die frische Blutung der Untersuchung mittelst dieser Probe noch entgehen können.

---

§ 15. *Der Vorgang der anhepatischen Gallenfarbstoffbildung.*

Wir haben festzustellen versucht, in welcher Weise die lokale anhepatische Bildung von Gallenfarbstoff vor sich geht. Namentlich wollten wir wissen, ob sie intraglobular oder extraglobular stattfindet. Zu diesem Zwecke haben wir ebenso wie in § 5 die roten Blutkörperchen in Fällen haemorrhagischer Exsudate, bei welchen sich reichlich lokal Bilirubin gebildet hatte, abzentrifugiert, gewaschen und auf Gallenfarbstoff untersucht. Es ist uns niemals gelungen, dabei intracorpusculares Bilirubin nachzuweisen. Auf Grund dieses Ergebnisses könnte man zu der Annahme neigen, dasz die Gallenfarbstoffbildung nicht in den Blutkörperchen, sondern im Blutplasma stattfindet. Indessen läszt sich diese Anschauung mit folgender Beobachtung wieder nicht leicht vereinigen.

Man nimmt als bewiesen an, dasz der Gallenfarbstoff sich aus keiner anderen Substanz als dem Haemoglobin oder dessen ersten Umsetzungsprodukten bildet. Falls also das Bilirubin nicht in den Körperchen, sondern in dem Plasma entstände, müszte man erwarten, im Plasma gelöstes Haemoglobin oder dessen erste Produkte anzutreffen. Dieses trifft aber nicht immer zu. Zuweilen zeigt sich bei der Untersuchung eines haemorrhagischen Exsudates die Flüssigkeit nach dem Zentrifugieren reich an gelöstem Haemoglobin, sehr oft aber findet man eine gelb gefärbte Flüssigkeit, in welcher sich mittelst des Spektroskops bei Besichtigung einer 1 bis 2 cm dicken Schicht kein Haemoglobinstreifen entdecken läszt.

Die Möglichkeit besteht natürlich, dasz auch in solchen Fällen dennoch Spuren von Haemoglobin im Plasma gelöst wären, aus denen sich Bilirubin bilden könnte; aber dies ist eine rein willkürliche und, wie uns dünkt, unwahrscheinliche Annahme.

Eine andere Möglichkeit, auf welche schon hingedeutet wurde, ist die, dasz sich in den roten Blutkörperchen aus dem Haemoglobin andere Substanzen bilden, Uebergangsstoffe zwischen Haemoglobin und Bilirubin, dasz diese in die Auszenflüssigkeit diffundieren und dort in Gallenpigment umgewandelt werden. Diese Annahme führt zur Untersuchung des Serums auf solche Uebergangsstoffe. Nachdem SCHUMM [1]) die Aufmerksamkeit auf das Haematin im Serum gelenkt hatte, haben wir in den bilirubinhaltigen Flüssigkeiten nach diesem Körper gesucht. In vielen Fällen konnten wir ihn in der Tat nachweisen, in anderen aber gelang es nicht. Ein notwendiger Zwischenstoff zwischen Blutfarbstoff und Gallenfarbstoff scheint Haematin also nicht zu sein. Der Vorgang der lokalen Bilirubinbildung, die Stelle, an welcher sie erfolgt, bedarf also näherer Untersuchung.

Ferner haben wir festzustellen versucht, ob sich auch in dem strömenden Blute innerhalb der Gefäszbahn Bilirubin bildet. Zu diesem Zweck haben wir bei zwei normalen Personen, deren Blutserum einen beträchtlich hohen Bilirubinwert besasz, und in einem Fall von perniziöser Anaemie, während einiger Zeit ein elastisches Band um den einen Arm gelegt und alsdann die Blutsera, welche wir den beiden Armen entnahmen, mit einander auf ihren Bilirubinwert verglichen. Es wäre möglich, dasz das Blut aus dem abgebundenen Arm, welches langsamer strömte und die ihm zufliessenden Stoffwechselprodukte nicht so schnell den Ausscheidungsorganen zuführte, wie das Blut in dem nicht gestauten Arm, an Bilirubin reicher wäre als dieses. Es stellte sich indessen heraus, dasz diese Voraussetzung nicht zutraf. Wir fanden stets völlig gleiche Werte. Dieses Resultat spricht für die Ansicht, dasz im strömenden Blut keine Bilirubinbildung aus dem Haemoglobin der intakten Körperchen stattfindet. Aber wir geben ohne weiteres zu, dasz diese — übrigens auch an Zahl viel zu geringen — Experimente wenig beweisen. Man kann ja eine derartige Stauung nur kurze Zeit fortsetzen, vielleicht für eine wahrnehmbare Bilirubinbildung zu kurz.

---

[1]) SCHUMM. Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1916, Bd. 97, S. 32. DERSELBE, Festschr. Eppend. Krankenhaus (Sep. Abdr.)

§ 16. *Die anhepatische Bilirubinbildung bei der perniziösen Anaemie.*

Wir haben früher gesehen, dasz das Serum von Patienten mit perniziöser Anaemie mehr Gallenfarbstoff enthält als das normaler Menschen. Diese Tatsache war übrigens schon vor längerer Zeit von SYLLABA [1]) hervorgehoben. Es lag nun nahe zu untersuchen, ob sich auch für dieses Bilirubin eine anhepatische Bildung nachweisen liesze. Aus naheliegenden Gründen wäre dabei in erster Linie an die Milz zu denken.

Es unterliegt keinem Zweifel, dasz die perniziöse Anaemie, der haemolytische Ikterus, die BANTI'sche Krankheit, mit einem Wort, alle die Krankheitsprozesse, die man heutigen Tages unter dem Namen der haemolytischen Anaemien zusammenfaszt, mit einer übermäszigen Destruktion der roten Blutzellen einhergehen. Zahlreiche Beobachtungen machen es wahrscheinlich, dasz hierbei der Abbau der Blutkörperchen namentlich in der Milz stattfindet. Der erste, der mit grossem Nachdruck und auf gute Gründe einen ursächlichen Zusammenhang zwischen einer krankhaften Tätigkeit der Milz und der Blutdissolution bei der perniziösen Anaemie feststellte, war HUNTER. [2]) Dieser Forscher führt für seine Ansicht hauptsächlich zwei Gründe an: erstens die typische Verteilung des anorganisch gebundenen Eisens in den verschiedenen Organen bei der perniziösen Anaemie und bei manchen experimentellen Anaemien. Ferner die Tatsache, dasz Versuchstiere, deren Milz zuvor entfernt wurde, manche Blutgifte, wie das Toluylendiamin, besser vertragen als nicht operierte Tiere. HUNTER ist darum der Ansicht, dasz diese Gifte nicht unmittelbar auf die roten Blutzellen wirken, sondern mittelbar, auf dem Wege über die Milz, in der Weise, dasz sie dieses Organ zu einer erhöhten Destruktion der roten Zellen reizen. Es ist allgemein bekannt, dasz BANTI für die nach ihm benannte Krankheit ebenfalls eine splenogene Ursache annahm. Der italienische Pathologe ging einen Schritt weiter, indem er bei diesen Patienten die Milz exstirpieren liesz. Und es gibt wohl keinen besseren Beweis für die Richtigkeit der splenogenen Theorie, als die Genesung, welche durch die Milz-

---

[1]) SYLLABA, Fol. haematol. III.

[2]) W. HUNTER, Pernicious anaemia. London, 1901.
S. auch: DERSELBE, Severest anaemias, London 1909. Daselbst Literatur.

Exstirpation bei zahlreichen Patienten mit morbus BANTI erreicht wurde. Auch beim angeborenen haemolytischen Ikterus, der zuerst im Jahre 1900 von MINKOWSKI beschriebenen und namentlich von CHAUFFARD studierten Krankheit, hat man wiederholt, gewöhnlich mit günstigem Erfolg, die vergröszerte Milz entfernt. Es ist merkwürdig, dasz man erst seit kurzer Zeit diese Operation bei der perniziösen Anaemie im engeren Sinne anzuraten gewagt hat, obgleich eben diese Krankheit die erste war, bei welcher die Bedeutung der Milz für die Entwicklung des Leidens festgestellt wurde (HUNTER). Wahrscheinlich hat niemand es früher gewagt, bei dieser Krankheit mit ihren wiederholten Rückfällen die Operation während des Stadiums der zeitweiligen Besserung vorzunehmen, und noch weniger während des schweren Zustandes der Blutdissolution, die von einem chirurgischen Eingriff abschreckt. Wir verdanken es EPPINGER und DECASTELLO, dasz man diese Scheu überwunden hat und auch bei der echten perniziösen Anaemie zur Milzexstirpation übergegangen ist. Seit EPPINGER's und DECASTELLO's ersten Miteilungen sind eine Anzahl Fälle dieser Operation bekannt geworden, von denen die meisten Patienten, wenn sie die Operation überstanden, immerhin eine Besserung ihres Zustandes aufwiesen. Wenn nun auch mit Sicherheit angenommen werden musz, dasz bei der perniziösen Anaemie die kranke Milz keineswegs das einzige Organ ist, in welchem eine übermäszige Destruktion von Blutkörperchen stattfindet, so ist es doch mehr als wahrscheinlich, dasz dieses Organ eine nicht unbedeutende Rolle bei dem Krankheitsprozess spielt. Auf Grund dieser Erwägung und im Hinblick auf den Umstand, dasz die Milz sich für diese Untersuchung ganz besonders gut eignet, haben wir also in einigen Fällen von perniziöser Anaemie das Blut der Vena splenica und dasjenige einer peripheren Vene aufgefangen, sei es so bald als möglich nach dem Tode, sei es nach einer operativen Entfernung der Milz. In beiden Blutsorten wurden die Mengen des gelösten Blutfarbstoffes bestimmt und nach Umsetzungsprodukten des Haemoglobins gesucht. Die in beiden Blutproben erhaltenen Befunde wurden mit einander verglichen. Was die Umsetzungsprodukte des Haemoglobins betrifft, so beschränkten wir uns anfangs auf das Bilirubin, später haben wir auch auf Haematin geachtet.

Es liegt in der Natur der Sache, dasz die Zahl der Fälle,

welche wir in dieser Weise untersuchen konnten, sehr klein ist, obgleich die schweren Blutkrankheiten in unsrer Klinik zahlreich sind. Die Ergebnisse, welche wir erhielten, sind jedoch so klar und stimmen so sehr miteinander überein, dasz sie ohne Vorbehalt einige Schluszfolgerungen erlauben. Wir lassen hier in Kürze unsre Beobachtungen folgen. Dabei lassen wir eine Beschreibung der klinischen Erscheinungen und sonstige Besonderheiten der Krankheitsgeschichten bei Seite. Wir beschränken uns auf die Mitteilung der Diagnose und auf die Punkte, auf welche es für unsre Schluszfolgerungen ankommt.

Patient I. Bei einer 25-jährigen Frau, die an schwerer Anaemie litt, deren Art nicht mit Sicherheit festgestellt werden konnte (haemolytische Anaemie mit Splenomegalie), entschlossen wir uns, nachdem sie längere Zeit in klinischer Behandlung gewesen, aber immer schlimmer geworden war, zur Milzexstirpation. Die Anaemie zeigt nicht den Typus Biermer. Der Farbenindex betrug 0.56 (Haemoglobin nach Sahli 24%, rote Blutkörperchen 2500000). Die Zahl der weiszen Blutkörperchen betrug 4100. Im gefärbten Präparat bemerkte man die gewöhnlichen Zeichen einer sehr schweren Anaemie, bei normalem Verhältnis der verschiedenen Sorten weiszer Blutzellen. Man fand einzelne Normoblasten, nie aber Megaloblasten. Die minimale Resistenz der roten Blutkörperchen gegen verdünnte Kochsalzlösungen betrug 0.52%, die maximale Resistenz 0.32% (bestimmt an den nicht gewaschenen roten Blutkörperchen).

Die Leber war nicht vergröszert, die Milz ragte zweifingerbreit unter dem Rippenbogen hervor. Im Urin war wenig Urobilin.

Die Milz war nicht mit der Umgebung verwachsen und wurde ohne Schwierigkeiten exstirpiert. Die Operation verlief schnell ohne Blutung.

Obwohl es nicht direkt zur Sache gehört, sei erwähnt, dasz die Patientin die Operation anfangs gut vertrug. Das mikroskopische Blutbild und die Resistenz der roten Blutkörperchen wurden nach der Operation jeden zweiten Tag festgestellt. Auszer einer geringen Verminderung der Normoblasten war keine Veränderung im mikroskopischen Präparate wahrzunehmen. Dreizehn Tage nach der Operation begann die Patientin über heftige Leibschmerzen zu klagen, nachdem bereits ein

paar Tage vorher der Bauch aufgetrieben war, ohne dasz freie Flüssigkeit in der Bauchhöhle nachgewiesen werden konnte. Im Stuhl kein Blut. Bald danach verfiel die Frau in einen komatösen Zustand und starb nach wenigen Stunden.

Bei der Sektion wurde eine von der Milzader ausgehende Thrombose der Vena portae gefunden.

Bei dieser Patientin haben wir, sobald die Milz exstirpiert war, also einige Minuten nach dem Unterbinden der Gefäsze, ungefähr 20 cm^3 Blut aus der Milzader in ein Reagenzgläschen aufgefangen. Vielleicht 15 Minuten später, als die Bauchwunde geschlossen war, haben wir aus der Fingerspitze ein wenig Blut entnommen. So konnten fast gleichzeitig erhaltenes Milzblut und peripheres Blut verglichen werden. Durch Gerinnung wurde ein klares Serum erhalten.

Beide Mengen Serum waren von hellgelber Farbe, aber die Farbe des Milzblutserums war etwas intensiver gelb als die des peripheren Blutserums. In keinem von beiden konnte bei Besichtigung oder mittels des Spektroskopes (Schichtdicke 1 cm) eine Spur Haemoglobin nachgewiesen werden.

Alsdann wurde der Bilirubingehalt bestimmt. Es zeigte sich, dasz das Milzblut deutlich mehr Bilirubin enthielt als das periphere Blut.

Patient II. Ein 38-jähriger Mann wurde im Jahre 1912 in der Klinik wegen perniziöser Anaemie behandelt. Da der Zustand sich, ungeachtet der zur Anwendung gebrachten Behandlungsmethoden (Einspritzung mit von Ziemssen's Arseniklösung, Bluttransfusion), verschlimmerte, wurden dem Patienten 100 mgr. Salvarsan intravenös eingespritzt. Darauf trat eine überraschende Besserung ein, sodasz der Mann kurze Zeit später, sehr bedeutend gebessert, nach Hause geschickt werden konnte.

Am 25. August 1913 wurde er von neuem in die Klinik aufgenommen. Bis 3 Wochen vorher war sein Befinden gut gewesen. Seitdem kehrten die alten Beschwerden wieder. Die gelbliche Blässe der Gesichtsfarbe nahm wieder an Intensität zu. Bei der Aufnahme bestand eine sehr starke Anaemie, der Haemoglobingehalt betrug weniger als 20% (Sahli); 920.000 rote Blutkörperchen, 2600 weisze. Das gefärbte Präparat gibt das typische Bild der perniziösen Anaemie. Von neuem wird Salvarsan eingespritzt, aber diesmal ohne Erfolg.

Am 18. September stirbt der Patient.

Einige Stunden nach dem Tode wurde die Obduktion vorgenommen. Dabei wurde aus der Vena portae und aus einer peripheren Ader Blut entnommen. Das Blutserum des Pfortaderblutes ist viel stärker haemolytisch als das des peripheren Blutes. Das Serum des Pfortaderblutes enthält viel mehr Gallenfarbstoff als das des peripheren.

Patient III. Ein Mann von 55 Jahren wurde am 15. Juli 1914 aufgenommen; er klagte über Schwäche und Schwindel. Bei der Untersuchung stellte sich heraus, dasz er an perniziöser Anaemie litt. Die Behandlung bestand in Arsenikeinspritzungen; trotzdem wurde der Zustand schlimmer, der Patient wurde teilnahmslos und war zeitweilig verwirrt. Der Haemoglobingehalt des Blutes war auszerordentlich niedrig; er betrug am 8. August 1914 nur noch ungefähr 15%; 980.000 rote Blutkörperchen, 7000 weisze Blutkörperchen. Im Blutpräparat waren die gewöhnlichen Abweichungen zu bemerken, wie sie bei perniziöser Anaemie gefunden werden. Da der Zustand des Patienten sich verschlimmerte und geradezu hoffnungslos wurde, entschlossen wir uns zur Milzexstirpation.

Die Operation am 10. August 1914 verlief ohne besondere Schwierigkeiten. Am Tage nach der Operation fing der Patient an zu delirieren. Es entwickelte sich rasch eine richtige halluzinatorische Psychose: der Mann wollte zum Bett hinaus und war, selbst mittels Narcotica in recht starker Dosis, nicht zur Ruhe zu bringen. Infolge unvermeidlicher Muskelanstrengungen risz die mit Katgut genähte Wunde auf. Diese muszte von neuem genäht werden. Das Allgemeinbefinden hatte jedoch so sehr gelitten, dasz der Patient am 13. August 1914 starb.

Sogleich nach der Operation wurde aus der Vena splenica und aus der Vena cubiti Blut aufgefangen. Das Serum des Milzvenenblutes war braun, das Serum des peripheren Blutes gelb. Spektroskopisch fand man in dem peripheren Blutserum kein Oxyhaemoglobin; wohl fand man eine kleine Menge Oxyhaemoglobin in dem Milzaderserum. Daneben sah man jedoch in dem Milzaderserum einen schmalen, scharf abgegrenzten Streifen im Rot bei 630—640 $\mu\mu$, der entweder von neutralem Haematin oder von Methaemoglobin stammen muszte. Dieser Streifen war in dem peripheren Serum nicht zu finden.

Nach Zusatz von Schwefelammonium sah man in beiden

Sera einen deutlichen Haemochromogenstreifen, der im Milzaderserum jedoch bedeutend stärker war als im peripheren Serum. Im Milzaderserum war also mehr Haematin vorhanden als im peripheren Serum, wie sich bereits mit Wahrscheinlichkeit daraus schlieszen liesz, dasz ein Streifen im Rot wohl im Milzaderserum, nicht aber im peripheren Serum zu finden war.

Nachdem den beiden Sera die doppelte Menge Alkohol hinzugefügt war und abzentrifugiert wurde, zeigte es sich, dasz im Milzserum mehr Bilirubin enthalten war als im peripheren Serum. In keinem der beiden Sera liesz sich freies Eisen nachweisen.

Patient IV. Ein Mann von 47 Jahren wurde am 24. September 1914 aufgenommen. Die Diagnose wurde auf perniziöse Anaemie gestellt. Bereits Anfang des Jahres 1914 war der Patient wegen dieser Krankheit in der Klinik verpflegt worden, damals wurde mittels Arsenikeinspritzungen eine beträchtliche Besserung erreicht. Er wurde seiner Zeit mit 60 % Haemoglobin entlassen.

Diesmal kam der Patient sehr anaemisch zurück. Haemoglobin ungefähr 12 %; 640.000 rote Blutkörperchen. Unter Behandlung mit Arsenikeinspritzungen verschlechterte sich der Zustand des Patienten. Zur Milzexstirpation wollte er keine Zustimmung geben. Deshalb wurde am 28. November 1914 eine intravenöse Bluttransfusion vorgenommen. Nachdem 35 cm³ Blut eingespritzt waren, wurde der Puls so schlecht, dasz an der Einspritzung ein Ende gemacht werden muszte. Der Zustand verschlechterte sich allmählich, sodasz Patient am 14. Dezember 1914 starb. Die letzten Tage vor dem Tode war Gallenfarbstoff im Urin nachzuweisen.

Eine Stunde nach dem Tode wurde die Obduktion vorgenommen und Blut aus der Vena splenica und aus der Vena cruralis aufgefangen. Die Farbe des Milzaderserums war viel dunkler als die des peripheren Serums, während sie auch etwas brauner war. Im Milzaderserum fand man bei spektroskopischer Untersuchung ein wenig Oxyhaemoglobin und einen schwachen Methaemoglobinstreifen. Bei gleicher Dicke der beobachteten Schicht sah man diesen Streifen im peripheren Blut nicht. In keinem der beiden Sera liesz sich Haematin nachweisen. Als man beiden Sera Schwefelammonium zusetzte, trat eine schwarzgrüne Verfärbung auf, welche im Milzaderblut *viel* intensiver war als im peripheren. Als man diese Reaktion vor

dem Spektroskop machte, ging eine fast völlige Verdunklung des ganzen Spektrums so schnell vor sich, dasz bestimmte Streifen zu erkennen nicht möglich war.

Die Untersuchung beider Sera auf Gallenfarbstoff wies aus, dasz das Milzserum beinahe *drei* Mal so viel Bilirubin enthielt als das periphere (näml. 1 : 18.000 und 1 : 46.000).

In beiden Sera liesz sich eine geringe Menge freies Eisen nachweisen. Obschon die Reaktion in beiden Sera nicht stark ausfiel, war sie im Milzserum doch sichtlich stärker als im peripheren. Wir nahmen diese Reaktion folgendermaszen vor: Zwei Tropfen Serum wurden in einem Porzellanschälchen auf dem Wasserbad bis trocken eingedampft. Nach Abkühlung setzte man einen Tropfen Salzsäure und einen Tropfen Ferrocyankalium zu. Falls sich sogleich eine tiefblaue Farbe zeigt, nennen wir die Reaktion positiv. Einer blauen Farbe, die sich erst später (z. B. nach einer halben Minute) zeigt, wird kein Wert beigelegt. Ein Kontrollversuch mit Salzsäure und Ferrocyankalium ohne Serum überzeugte uns jedes Mal, dasz die gebrauchten Reagentien eisenfrei waren.

Nebenbei sei bemerkt, dasz es uns beim Zentrifugieren des Blutes aufgefallen war, dasz das Milzaderblut einen viel kleineren Kuchen von roten Blutkörperchen enthielt als das periphere. Das Milzblut enthielt mehr Serum und mehr weisze Blutkörperchen als das periphere Blut.

Die geringe Menge an Material verhinderte uns, den Farbstoff, der nach Zusatz von Schwefelammonium zum Serum entstand, näher zu untersuchen.

Patient V. Ein Mann von 49 Jahren wurde am 4. Juni mit allen Symptomen der perniziösen Anaemie aufgenommen. Die Anaemie bestand bereits seit 4 Monaten. Im Jahre 1912 litt er an derselben Krankheit; der Patient war damals nach einer Arsenikkur bedeutend gebessert.

Patient wurde auch diesmal mit Arsenikeinspritzungen in steigenden Dosen behandelt. Nach 6 Wochen war der Zustand aber noch schlechter als im Anfang der Kur. Der Patient war so blutlos, dasz er sich im Bett nicht aufrichten konnte, da er dann heftige Schwindelanfälle bekam. Am 8. Juli 1914 ergab die Blutuntersuchung: 15% Haemoglobin (Sahli); 900.000 rote Blutkörperchen. Die Zahl der weiszen Blutkörperchen schwankte zwischen 5000 und 7000. Im Blutpräparat Anisozytose, Poikilo-

zytose, Polychromatophilie. Megalozyten, einzelne Normoblasten (darunter solche mit Kernteilung), einzelne Megaloblasten.

Da also bei Anwendung der medikamentösen Behandlung keine Besserung eintrat und der Zustand ernst, um nicht zu sagen hoffnungslos wurde, entschlossen wir uns zur Milzexstirpation.

Die Operation wurde am 18. Juli 1914 vorgenommen. Die Wundheilung verlief ungestört. Nach der Operation fühlte sich der Patient subjektiv viel wohler. Er konnte zu Hause seine gewohnten Arbeiten wieder aufnehmen und fühlte sich fast genesen.

Objektiv war die Besserung viel geringer. Gleichwohl zeigte das Blutbild am 4. November 1914 doch einen Fortschritt. Die Zahl der roten Blutkörperchen betrug 1.880.000 und der Haemoglobingehalt 55%.

Bei der Operation wurde Blut aus der Vena splenica aufgefangen und mit Blut aus einer peripheren Ader verglichen. Die Farbe des Serums des Milzvenenblutes war mehr dunkelbraun, die Farbe des peripheren Serums mehr gelb. Nachdem das Eiweisz der beiden Sera mit doppelter Menge Alkohol gefällt und der Niederschlag abzentrifugiert war, wies die Reaktion mit der Diazoniumlösung im Serum der Milzader sichtlich mehr Gallenfarbstoff auf als im peripheren Serum. Freies Eisen liesz sich in keinem der beiden Sera nachweisen. Auf Haematin wurde nicht untersucht.

Patient VI. Ein Patient mit den klassischen Symptomen der perniziösen Anaemie starb am 26. Juli 1906.

Einige Stunden nach dem Tode wurde die Obduktion vorgenommen. Die Milzvene wurde doppelt unterbunden, darauf die Milz aus dem Körper genommen. Danach wurde Blut aus der Milzvene mit einer Spritze aufgesogen; ebenso aus der Vena cruralis. Letzteres enthielt fast kein gelöstes Haemoglobin, das Milzvenenblut war deutlich haemolytisch.

Die Bestimmung des Bilirubingehaltes der beiden Blutproben zeigte, dasz das Milzvenenblut zwei mal so viel Gallenfarbstoff enthielt als das Blut der Vena cruralis. Das periphere Blut enthielt kein Haematin.

In allen diesen 6 Fällen liesz sich also nachweisen, dasz das Serum des Milzblutes mehr Bilirubin enthielt als das des peripheren Blutes. In einigen Fällen war der Unterschied gering, in anderen Fällen jedoch sehr grosz. Ein einziges Mal war es

bereits bei einfacher Besichtigung der Flüssigkeiten deutlich, dasz die gelbe Farbe des Milzserums intensiver war als die des peripheren Serums.

Eine direkte Vergleichung der Farbe von Milzaderserum und peripherem Serum ist offenbar nur dann möglich, wenn in keinem der beiden Sera der gelben Farbe eine andere Farbe oder Farbenton beigemischt ist. Da aber das Milzaderserum häufig etwas haemolytisch ist oder eine mehr braune Farbe zeigt, ist die direkte Vergleichung der Farbenintensität nur selten möglich. Die Bilirubinbestimmung ist jedenfalls für diese Untersuchungen notwendig.

Ein paar Worte über den haemolytischen Zustand des Milzaderblutes.

In zwei von unseren 6 Fällen war das Milzvenenserum gar nicht haemolytisch, in zwei Fällen enthielt es eine Spur Haemoglobin, in zwei anderen Fällen ziemlich viel, während das periphere Serum von gelöstem Blutfarbstoff stets ganz frei war.

Banti und andere Forscher nehmen an, dasz bei den haemolytischen Anaemien das Milzvenenserum stets gelösten Blutfarbstoff enthalte. Nach Einspritzung von Toluylendiamin oder haemolytischem Serum an Hunden fand Banti im Milzaderserum mehr gelöstes Haemoglobin als im peripheren Blutserum. [1]) Sogar bei normalen Hunden fand er zuweilen im Serum der Vena lienalis etwas Haemoglobin, während das periphere Blutserum davon frei war. Weil berichtet über ähnliche Befunde. [2])

Unserer Meinung nach müssen die Beobachtungen Banti's und Weil's mit Vorsicht beurteilt werden. Die roten Blutkörperchen von Hunden sind offenbar sehr lädierbar, und es ist schon unter normalen Umständen sehr schwierig, völlig haemoglobinfreies Hundeserum zu erhalten. Aus diesem Grunde wäre es durchaus nicht undenkbar, wenn die beim Auffangen von Blut aus der Milzader unvermeidlichen Manipulationen mehr rote Blutkörperchen zerstören würden als die einfachen Handgriffe, welche zur Entnahme von Blut aus dem peripheren Blutstrom erforderlich sind. Es ist denn auch auffallend, dasz Banti ausdrücklich berichtet, er habe nur bei seinen Hunde-

---

1) Banti, Semaine médicale 1913, No. 27.

2) Weil, Travaux de l'Institut Solvay.

experimenten Haemoglobin im Serum gefunden, niemals aber in dem von Kaninchen. Nun ist das Kaninchenblut viel weniger empfindlich als das von Hunden. KRUMBHAAR und MUSSER, [1]) welche bei ihren wichtigen Untersuchungen über die Milzfunktion ebenfalls auf das Vorkommen von freiem Haemoglobin in der Milzader und im Blut der peripheren Gefäsze geachtet haben, kommen zu dem Schlusz, dasz freies Haemoglobin im Blut der Vena lienalis nicht vorkomme. Sie schreiben BANTI's Beobachtung dem Umstande zu, dasz während oder nach der Blutentnahme rote Blutkörperchen verletzt seien.

Wir selbst haben, wie bereits erwähnt, während wir die äuszerste Vorsicht bei der Blutentnahme betrachteten, das eine Mal gelöstes Haemoglobin im Milzserum vorgefunden, das andere Mal nicht. Auch in jenen Fällen, in welchen wir haemoglobinhaltiges Milzvenenserum fanden, war das periphere Serum frei von Blutfarbstoff. Die einfachste Erklärung aller dieser Beobachtungen scheint uns diese zu sein, dasz die roten Blutkörperchen des Milzaderplasmas leichter lädierbar sind als andere. Das mit der Blutentnahme unvermeidlich verbundene Trauma und die mit der Gerinnung einhergehenden Prozesse würden also eine gewisse Zahl Erythrozyten des Milzblutes zur Auflösung bringen, während die gleichen Einflüsse die roten Zellen des peripheren Blutes unberührt liessen.

In vielen Fällen enthielt das Serum neben Bilirubin noch andere Farbstoffe, namentlich Haematin. Nur in den beiden letzten Fällen richteten wir unsere Aufmerksamkeit auf das Haematin. Später haben wir bei verschiedenen Patienten mit perniziöser Anaemie schon zu Lebzeiten Haematin im Blut vorgefunden. In einem Falle fanden wir im Milzblut bei spektroskopischer Besichtigung (Schätzung nach der Intensität des Streifens) mehr Haematin als im Serum einer anderen Ader. Wir müssen hierzu noch folgendes bemerken. Die einzige Möglichkeit, in kleinen Mengen Serum Haematin nachzuweisen, bietet die spektroskopische Methode. Sie besteht darin, dasz man dem Serum ein wenig Schwefelammonium zusetzt. Ist Haematin vorhanden, dann entsteht das Haemochromogen, das sich durch einen scharfen Streifen bei 560 $\mu\mu$

[1]) KRUMBHAAR and MUSSER, the Journ. of exper. Medic. 1914, XX, No. 2, p. 111.

kennzeichnet. Man musz schnell hinsehen, denn der Streifen verschwindet bald. Wenn das Serum viel gelöstes Haemoglobin enthält neben relativ wenig Haematin, ist der Nachweis dieses letzteren unmöglich. Der dem Haematin zukommende Streifen im Rot kann nämlich mit demjenigen des Methaemoglobins verwechselt werden, das bekanntlich gleichfalls einen Absorbtionsstreifen im Rot liefert. Die Hinzufügung von Schwefelammonium gestattet die beiden Farbstoffe von einander zu unterscheiden. Durch das Schwefelammonium wird nämlich das Methaemoglobin zu Haemoglobin reduziert, während, wie gesagt, das Haematin durch die selbe Behandlung in Haemochromogen umgesetzt wird, das durch sein überaus charakteristisches Spektrum ausgezeichnet ist (sehr scharfer Streifen bei 560). Wenn nun aber neben wenig Haematin viel Haemoglobin enthalten ist (haemolytisches Serum), dann absorbiert das Haemoglobin so viel Licht, dasz das Spektrum bis dicht an den Streifen des Haematins ganz verdunkelt wird und folglich dieser Streifen selbst nicht wahrgenommen werden kann. Verdünnt man jedoch das Serum, um diesen Spektralteil frei zu bekommen, dan verdünnt man natürlich zugleich das Haematin so sehr, dasz es, auszer bei Vorhandensein sehr groszer Mengen, nicht nachgewiesen werden kann. [1])

In zwei Fällen waren auszer Bilirubin und Haematin noch andere Farbstoffe im Serum vorhanden, die wir nicht im Stande waren zu identifizieren.

Bei Patient IV zeigte sich nach Zusatz einiger Tropfen Ammoniumsulfid eine grünlich-schwarze Verfärbung. Ein verwertbares Spektrum gab diese Flüssigkeit nicht. Die geringe Menge der Flüssigkeit stand einer näheren Untersuchung im Wege. Nur das eine konnten wir feststellen, dasz das Milzblut mehr von jenem Farbstoff enthielt als das andere Blut.

Nur in einem Falle haben wir auf die Dicke der roten Blutkörperschicht nach Abzentrifugieren des Serums im Verhältnis zur überstehenden Flüssigkeit geachtet. Wenn man dieses Verhalten des peripheren Blutes bei schweren Anaemien untersucht, findet man immer eine viel weniger dicke Schicht von roten Blutkörperchen als bei normalen Menschen. In dem

---

[1]) O. Schumm, Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. 87, 1913, S. 177 und Bd. 97, 1916, S. 32.

hier erwähnten Falle konnten wir nun das Blut aus der Milzader mit demjenigen aus einer peripheren Ader vergleichen. Es zeigte sich ein groszer Unterschied zwischen beiden Blutproben: die Dicke der Schicht der roten Blutkörperchen im Verhältnis zur Schichtdicke der überstehenden Flüssigkeit war viel geringer im Milzblutserum als im Serum des Blutes aus der Vena cruralis.

Wenden wir uns schlieszlich zu dem Punkt, auf den es hier hauptsächlich ankommt, zum Bilirubingehalt des Serums.

In allen oben erwähnten Fällen enthielt das Serum der Milzvene mehr Bilirubin als das einer peripheren Ader derselben Person. Der Unterschied. war immer deutlich; zuweilen sehr beträchtlich. Im Fall der Patientin IV war der Bilirubingehalt des Milzblutserums fast dreimal so grosz (1 : 18.000) als der der Vena cruralis (1 : 46.000). Diese Patientin hatte einen deutlichen Gewebsikterus und Gallenfarbstoff im Urin, entsprechend den früher von uns festgestellten Schwellenwerten.

In einigen anderen Fällen von perniziöser Anaemie haben wir einen Unterschied in dem Bilirubingehalt des Serums von Milzader und peripherer Ader nicht nachweisen können.

Wir können also den Schlusz ziehen, dasz in einigen der von uns untersuchten Fällen von schwerer, meist perniziöser Anaemie eine anhepatische, in der Milz selbst erfolgende Bilirubinbildung stattgefunden hat.

Neben dem Bilirubin werden noch andere Zersetzungsprodukte des Haemoglobins angetroffen, nämlich: Methaemoglobin, Haematin, und andere, unbekannte Farbstoffe. Ob diese Stoffe eine derartige Reihe bilden, dasz der eine aus dem anderen, und das Bilirubin als Endprodukt entsteht, ist noch unbekannt.

Es liegt nahe, diese Ergebnisse mit denjenigen zu vergleichen, zu welchen wir beim Studium der anhepatogenen Gallenfarbstoffbildung in haemorrhagischen Exsudaten und Haematomen gelangt waren.

Es ergibt sich eine überraschende Uebereinstimmung zwischen beiden Prozessen. Haben wir doch auch in den Haematomen oft, aber nicht immer, Haemoglobin in kleineren oder gröszeren Mengen im Serum gelöst angetroffen, daneben eine kleinere oder etwas gröszere Menge Methaemoglobin, stets lokal gebildetes Bilirubin in gröszerer Menge und (so oft wir danach suchten) Haematin.

Früher (s. § 13, S. 67) haben wir die Regel aufstellen können, dasz sich beim Menschen aus dem Blutfarbstoff, so oft das Blut die Adern verlassen und sich zwischen die Gewebselemente oder in die Körperhöhlen ergossen hat, lokal (anhepatisch) Bilirubin bildet.

Ganz von selbst kommen wir zu der Anschauung, dasz sich das Blut in der Milz bei haemolytischen Anaemien in ähnlichem Zustande befindet, als wenn es die Gefäsze verlassen und sich zwischen die Gewebselemente ergossen hätte. Diese Auffassung ist mit den Ergebnissen, zu denen Eppinger auf Grund histologischer Untersuchung gelangte, im Einklang. [1]) Eppinger erinnert an die mikroskopischen Befunde Weidenreichs, des besten Kenners der Milz-Histologie. Nach ihm enden die Kapillaren der Milzschlagader zum Teil in dem sogenannten Sinus, der mit einer besondern Wand versehen ist, zum andern Teil in offenen Räumen ohne eigentliche Wand.

Eppinger beschreibt nun, wie er die Milzen von an haemolytischen Anaemien Erkrankten geradezu mit roten Blutkörperchen vollgepfropt fand, wobei diese nicht so sehr in den Gefäszen als vielmehr im Parenchym angetroffen wurden. Dort liegt das Blut jedoch auszerhalb der eigentlichen Gefäsze und kommt direkt mit Bindegewebe (oder Lymphozyten) in Berührung und wird also, nach unsrer Ansicht, den zerstörenden Kräften genau so zum Opfer werden können, als wenn es zwischen den Gewebselementen ausgetreten wäre.

In einem wichtigen Punkte sind wir jedoch anderer Ansicht als Eppinger. Während dieser sagt: „ich glaube durchaus nicht dasz Erythrozyten schon innerhalb der Milzpulpa aufgelöst werden", glauben wir mit Bestimmtheit nachgewiesen zu haben, dasz *in gewissen Fällen von perniziöser Anaemie rote Blutkörperchen in der Milz vernichtet wurden*, wobei vielleicht kleine Mengen Haemoglobin, jedenfalls aber Umsetzungsprodukte des Blutfarbstoffs, vor allem Bilirubin, frei wurden.

Die Milz ist jedoch sicherlich nicht das einzige Organ, in welchem bei der perniziösen Anaemie Gallenfarbstoffbildung stattfindet. Bereits die Tatsache, dasz die roten Blutkörperchen, welche die Milz verlassen, viel empfindlicher sind als die Blutkörperchen des peripheren Blutes, läszt vermuten, dasz strom-

---

[1]) Eppinger, Berl. klin. Wochenschr. 1913, No. 34 und No. 52.

abwärts von der Milz diese minderwertigen Blutzellen sehr wahrscheinlich den zerstörenden Kräften zum Opfer fallen werden.

Den direkten Beweis aber von der Blutdestruktion bei der perniziösen Anaemie auszerhalb der Milz mit Bildung verschiedener Abbau-Produkte des Haemoglobins bringt die Untersuchung der an dieser Krankheit leidenden Menschen nach der Milz-Exstirpation. In allen solchen Fällen findet man laut übereinstimmender Mitteilung in der Literatur, und nach dem was wir auch selbst erfahren haben, dasz die für diese Krankheit typischen Veränderungen des Blutes bestehen bleiben, wenn auch der allgemeine Zustand sich vorübergehend verbessert. Wir selbst konnten diese Erfahrung bestätigen und überdies nachweisen, dasz auch der Bilirubingehalt des Blutserums nach der Operation auf den früheren abnorm hohen Wert beharrt. Es sei gestattet, diese Tatsache an der Hand eines einzigen Beispiels zu erläutern.

Dem Patienten P . . . ., der das klassische klinische Bild der perniziösen Anaemie bot, wurde am 18. Juli 1914 die Milz entfernt.

Nach der Operation fühlte der Mann sich subjektiv sehr viel verbessert und die Zusammensetzung des Blutes machte anfangs beachtenswerte Fortschritte. Am 4. November betrug der Haemoglobingehalt 55 % und die Zahl der roten Körperchen 1.880.000 gegen 15 % und 900.000 unmittelbar vor der Operation; gleichwohl zeigte das mikroskopische gefärbte Präparat das Bild der echten perniziösen Anaemie. Der Urobilingehalt des Urins war gering. Im Februar 1915 befand der Mann sich noch ganz wohl. Da kam er jedoch im April 1915 aufs neue in die Klinik. Nach seiner Aussage hatte er einige Monate vorher die Grippe bekommen und fühlte er sich seitdem andauernd müde und schwach. Der Patient sah in der Tat sehr viel schlechter aus als das vorige Mal bei seiner Entlassung. Der Haemoglobingehalt (Sahli) betrug jetzt 35 %, die Zahl der roten Blutkörperchen 1.600.000, der weiszen 7000 während im gefärbten Präparat die typischen Zeichen der perniziösen Anaemie noch immer, ebenso wie früher, gefunden wurden. Der Urin enthielt wenig Urobilin.

Das Serum des Patienten, welches wir durch Gerinnen im Brutschrank einer sehr geringen Menge Blutes erhielten, zeigte

eine eigenartig braune Farbe, die sogleich auffiel. Bei direkter spektroskopischer Besichtigung einer 1 cm dicken Schicht sah man ganz deutlich 3 Streifen, deren dunkelster bei 640 $\mu\mu$ lag. Zufügung von Schwefelammonium liesz das Spektrum des Haemochromogens intensiv entstehen. Diese spektralen Eigenschaften bewiesen, dasz das Serum Haematin in auffallend groszer Menge enthielt. Freies Oxyhaemoglobin enthielt es entweder nicht oder nur in Spuren. Der Bilirubingehalt war höher als normal; nach unsrer früher beschriebenen ursprünglichen Methode geschätzt, betrug er 1 : 90.000. Diese Beobachtung lehrt:

1. Dasz bei einem Patienten mit perniziöser Anaemie das histologische Blutbild auch noch nach der Milzentfernung die klassischen Veränderungen zeigte, genau wie zuvor, was mit den Beschreibungen aus andern Kliniken übereinstimmt.

2. Dasz bei diesem Patienten auch nach der Milzentfernung noch ein abnorm starker Blutzerfall stattfand mit Bildung von sehr viel Haematin und mit ziemlich starkem Bilirubingehalt des Blutserums.

Bei der perniziösen Anaemie findet also, auszer in der Milz, auch noch anderswo ein starker Blutzerfall statt unter Abbau des Blutfarbstoffs zu Haematin und Bilirubin.

Wir wissen noch nicht, wo wir die Zerstörung der roten Blutkörperchen zu suchen haben — vielleicht in der Leber, im Knochenmark, in den Haemolymphdrüsen im Sinne Weidenreichs?

Jedenfalls steht es aber fest, dasz bei der perniziösen Anaemie in vielen Fällen eine mehr oder weniger bedeutende anhepatische Bilirubinbilding in der Milz stattfindet.

---

§ 17. *Der Blutzerfall bei anderen Anaemien.*

Im Anschlusz an die obenerwähnten Untersuchungen haben wir den Blutzerfall bei einigen anderen Anaemien studiert. Namentlich haben wir der akuten Leukaemie unsere Aufmerksamkeit geschenkt. Von den von uns untersuchten Fällen wollen wir nur einen als Beispiel beschreiben.

Der Patient, ein Mann von 29 Jahren, starb am 13. April 1913 an akuter myeloider (Myeloblasten-) Leukaemie. Die

Krankheit ging mit einer sehr starken Anaemie einher, welche aus verschiedenen Gründen als eine haemolytische aufgefaszt werden muszte. Den Tag vor dem Tode lieferte die Blutuntersuchung folgendes Ergebnisz: Rote Blutkörperchen 510.000, Haemoglobin (SAHLI) 15 %, Färbeindex ungefähr 1.5 (soweit man bei einer so schweren Anaemie zuverlässige Haemoglobinbestimmungen machen kann), weisze Blutkörperchen 137.000, fast ausschlieszlich Myelozyten und Myeloblasten. Im Blutserum läszt sich eine mäszige Menge Gallenfarbstoff, dagegen kein nicht maskiertes Eisen nachweisen.

Am 13. April wurde versucht durch Bluttransfusion das Leben noch zu retten. Einem Verwandten wurden 100 cm³ Blut entnommen und davon 60 cm³ definibriert intravenös eingespritzt. Obgleich während dieser Einspritzung nichts besonders zu bemerken war, konnte das Ende dadurch nicht aufgehalten werden. Einige Stunden nach der intravenösen Einspritzung starb der Patient.

Drei Stunden nach dem Tode wurde die Obduktion vorgenommen. Aus der Milzader und aus der Vena cruralis wurde mittels einer Spritze Blut aufgesogen. Das Serum des Blutes aus der Vena cruralis enthielt eine Spur mehr Gallenfarbstoff als am vorigen Tage, während des Lebens und vor der Bluttransfusion, im peripheren Blut gefunden worden war. In dem selben Serum fand man deutliche Eisenreaktion mit Salzsäure und Ferrozyankalium. Die Bluttransfusion hat also den Gallenfarbstoffgehalt des peripheren Blutserums nicht erhöht. Wohl ist infolge dieser Einspritzung freies Eisen im peripheren Blutstrom aufgetreten.

Beim Vergleich des Serums aus der Vena splenica und der Vena cruralis zeigt sich folgendes: *Die Farbe des Milzvenenserums ist braun, viel dunkler als diejenige im Serum des peripheren Blutes.* Der Gallenfarbstoffgehalt der beiden Sera ist aber derselbe.

Das Spektrum beider Sera ist gleich: diffuse Verdunklung des rechten Teils des Spektrums. Im Milzaderserum läszt sich jedoch sehr viel mehr freies Eisen nachweisen als im peripheren Serum. Auf Haematingehalt beider Sera wurde leider nicht geachtet.

Bei diesem Patienten mit einer Blutkrankheit, bei welcher ein verstärkter Blutzerfall wohl wahrscheinlich ist, wurde also

das eingespritzte defibrinierte Blut durch die Milz auf eigenartige Weise zerlegt. Ein nicht-maskiertes Eisen enthaltendes Zersetzungsprodukt wurde im Blute wiedergefunden. Da nun das freie Eisen in der Milzader in *viel gröszerer Menge* vorhanden war als im peripheren Blut, liegt die Annahme nahe, dasz diese Zerlegung des Blutes in der Milz vor sich gegangen sei. In Gallenfarbstoff scheint die Milz in diesem Falle das Haemoglobin nicht verwandelt zu haben.

Noch in fünf weiteren Fällen von akuter Leukaemie haben wir das periphere Blut, welches unmittelbar nach dem Tode aus der Vena lienalis entommen wurde, auf Bilirubin und auf nicht maskiertes Eisen untersucht.

In allen diesen Fällen erhielten wir ausnahmslos ein gleiches Ergebnisz, das sich in folgenden Sätzen zusammenfassen läszt:

1º. Bei Patienten mit akuter Leukaemie ist der Bilirubingehalt des Blutserums vom peripheren Blute normal oder ungefähr normal.

2º. Es besteht kein Unterschied in dem Bilirubingehalt des Serums aus dem peripheren Blute und aus dem Milzader-Blute.

3º. Bei den Patienten, die nicht kurz zuvor mit Bluttransfusion behandelt worden sind, ist in dem peripheren Blutserum kein nicht-maskiertes Eisen nachzuweisen. (Dasselbe gilt für Patienten mit perniziöser Anaemie).

4º. Bei Patienten, die an akuter Leukaemie gestorben sind, findet man ausnahmslos, seien sie mit Bluttransfusion behandelt oder nicht, nicht-maskiertes Eisen im Milzaderserum in bedeutender Menge.

5º. Bei Patienten mit akuter Leukaemie, die mit Bluttransfusion behandelt worden sind, findet man im peripheren Serum wenig Eisen, sehr grosze Mengen im Milzaderserum. (Bei einigen wenigen Fällen von perniziöser Anaemie, die mit Transfusion behandelt worden waren, fanden wir im peripheren Blutserum sowie im Milzaderserum eine gleiche kleine Menge Eisen).

Diese Beobachtungen scheinen den Schlusz zu gestatten, dasz zwischen dem Blutabbau bei der perniziösen Anaemie und bei der akuten Leukaemie ein prinzipieller Unterschied besteht. Bei dieser Krankheit wird der Blutfarbstoff derart abgebaut,

dasz der eisenfreie Anteil in einer anderen Form als Bilirubin im Blute erscheint; im Eisen enthaltenden Baustein aber ist das Eisen in nicht-maskierter Form nachweisbar. Bei der perniziösen Anaemie dahingegen kommt der eisenfreie Anteil als Bilirubin zur Erscheinung; das Eisen aber kann durch die Probe auf nicht-maskiertes Eisen nicht nachgewiesen werden.

Fälle von schwerster Anaemie, die zum Tode führen, ohne dasz sie zu der echten perniziösen Form gerechnet werden können, kommen nicht selten vor. [1]) Bisher hatten wir bei derartigen Fällen nur selten Gelegenheit, nach dem Tode das Blut der Milzader zu untersuchen.

Folgender Fall sei hier als Beispiel angeführt:

Fall von progressiver, zum Tode führender Anaemie ohne starke Bilirubinaemie und ohne lokale Gallenfarbstoffbildung in der Milz.

Patient A., 30 Jahre alt, wurde im März 1913 zum ersten Mal in die Klinik aufgenommen. Er teilte mit, er sei bis vor einigen Jahren vollkommen gesund gewesen, nur habe er vor 15 Jahren zweimal einen epileptischen Anfall gehabt, später nicht mehr. Vor sechs Jahren hatte er Gelbsucht ohne Schmerzanfälle, welche nach kurzer Zeit verschwand. Seit vier Jahren litt er an Erbrechen, mehrmals täglich. Es kommen dann einige Löffel einer wässerigen Flüssigkeit in den Mund, die selten sauer, gewöhnlich bitter schmeckt.

Die Haut und die Schleimhäute des Patienten waren blasz. Leber eben fühlbar. Uebrigens wurden keine Abweichungen in Brust und Bauch gefunden. Der Stuhl enthielt kein Blut. Untersuchung des Mageninhalts nach Probefrühstück liesz völliges Fehlen von Salzsäure und Pepsin erkennen. Keine Milchsäure und auch sonst keine Abweichungen.

Blutuntersuchung: Haemoglobin nach Sahli 70 %. Zahl der roten Blutkörperchen 4.200.000, Zahl der weiszen 6200. Mikroskopisch keine abnormen Zellen. In sehr viel besserem Befinden nach einiger Zeit entlassen.

Oktober 1913 von neuem aufgenommen. Das Erbrechen war wiedergekommen und quälte den Patienten sehr. Auszerdem klagte er über baldige Ermüdung, Ohrensausen, Klopfen in den Ohren. Ein paar Mal hat er Nasenbluten gehabt. Guter

---

[1]) Siehe auch William Hunter, Severest anaemias, London 1909.

Appetit. Von Zeit zu Zeit hatte Patient Durchfall. Allgemeiner Zustand leidlich, jedoch starke Anaemie. Bei Drücken auf das Brustbein wurde über Schmerz geklagt. Nonnengeräusch am Hals, übrigens keine Abweichungen der Organe. Der Urin enthielt viel Urobilin. Der Stuhl enthielt kein Blut, jedoch sehr zahlreiche Eier von Trichocephalus dispar.

Blutuntersuchung: Haemoglobin 17 %, Zahl der roten Blutkörperchen 1.064.000, Zahl der weiszen Blutzellen 3600, Färbeindex 0.8. Wenig Poikilozyten, einzelne Makro- und Mikrozyten. Keine Normoblasten, einzelne Megaloblasten.

Patient blieb geraume Zeit in der Klinik und wurde nacheinander mit verschiedenen Mitteln (Salzsäure, Arsenik u. s. w.) behandelt. Allmählich besserte sich der Zustand beträchtlich.

Ende Dezember enthielt das Blut 58 % Haemoglobin, 2.400.000 rote Blutkörperchen. Färbeindex daher 1.2. Mikroskopisch keine Normo- oder Megaloblasten.

Mitte Januar 1914 wurde der Patient bedeutend gebessert entlassen. Am 15. Dezember 1914 wurde er zum dritten Mal aufgenommen. Die Zunge war atrophisch, die Schleimhaut dünn, jedoch an der Spitze rote, hypertrophische Papillen. Müdigkeit und Schwächegefühl waren stärker geworden. Der Urin enthielt kein Urobilin. Die Untersuchung des Blutes ergab folgendes: Haemoglobin 32 %, Zahl der roten Blutkörperchen 1.470.000, Zahl der weiszen 5000. Färbeindex 1.1. Mikroskopisch: keine Polychromatophilie; rote Blutkörperchen sehr grosz (Makrozyten), nur einzelne Mikrozyten, keine Poikilozytose. Keine kernhaltende, rote Blutkörperchen gefunden.

Trotz aller Bemühungen bei der Behandlung verschlechterte sich der Zustand, sodasz Patient am 14. Januar 1915 in komatösem Zustand starb.

Es wurde Blut aus der Milzader und aus einer peripheren Ader entnommen. Der Bilirubingehalt beider war gleich und nicht erhöht.

Das Knochenmark des proximalen dritten Teiles des Schenkelknochens war rot gefärbt, das übrige gelb.

An den Brust- und Bauchorganen wurden keine Abweichungen gefunden.

Die Zusammenfassung dieser Krankheitsgeschichte lehrt folgendes: Bei einem Patienten, der an einer schweren, zum Tode

führenden Anaemie litt, die in gewisser Hinsicht dem klassischen Bilde der perniziösen Anaemie (ADDISON) glich, in manchen Einzelheiten sich jedoch von diesem Krankheitsbilde unterschied, fanden wir einen niedrigen Bilirubingehalt des Serums und keinen Unterschied im Bilirubinwert in der Milzader und der peripheren Ader.

Noch ein andrer Fall von schwerster, aber atypischer Anaemie scheint uns bemerkenswert. Bei dieser Patientin wurde nach dem Tode das Blut aus der Milzader und aus einer peripheren Ader aufgefangen und der Bilirubinwert beider Sera bestimmt. Das Milzaderblut enthielt nun weniger Gallenfarbstoff als das periphere. Der Unterschied war so bedeutend, dasz ein technischer Versuchsfehler uns ausgeschlossen zu sein scheint. Wenn es gestattet wäre, aus einem einzigen derartigen Fall einen Schlusz zu ziehen, so würde man geneigt sein daran zu denken, dasz in der Milz bei dieser Patientin ein weiterer Abbau von Bilirubin stattgefunden hätte.

In anderen Fällen von sehr schweren Anaemien, deren Art nicht recht deutlich war und die sich nicht auf eines der typischen Krankheitsbilder zurückführen lieszen, hatten wir keine Gelegenheit, das Milzblutserum und das periphere Serum mit einander zu vergleichen. Wohl haben wir in derartigen Fällen, und ebenso bei zahlreichen Fällen von schweren sekundären Anaemien, den Bilirubingehalt des peripheren Blutes untersucht (z. B. bei schwerer Anaemie nach Blutverlust, bei Karzinom, bei Phthisis, und dergleichen). Dabei fanden wir stets niedrige Werte. Wir glauben daher annehmen zu dürfen, dasz bei all diesen pathologischen Zuständen der abnorme Blutzerfall ohne Bilirubinbildung vor sich geht. [1])

Von diesen Fällen wird im nächsten Paragraphen etwas ausführlicher die Rede sein.

---

[1]) S.: HIJMANS V. D. BERGH und SNAPPER, Berlin. Klin. Wochenschr. 1914, No. 24 u. 25 und 1915, No. 42.

§ 18. *Der Bilirubingehalt des Blutserums bei verschiedenen anderen Krankheiten.*

Bei unsern Bilirubinbestimmungen im Blutserum von zahlreichen Menschen, die an allerlei Krankheiten litten, fiel es uns auf, dasz bei Patienten mit Phthisis pulmonum, chronischer Nephritis (namentlich Nierenschrumpfung), malignen Tumoren (Karzinom, Sarkom, Granulom), mit Leukaemie, das Serum auszergewöhnlich arm an Gallenfarbstoffen war, es sei denn, dasz gewisse zur Gallenstauung führende Komplikationen vorlagen. Wie wir bereits erwähnten, musz in diesen Fällen der Zerfall des Blutes ohne Bilirubinbildung, vielmehr unter Bildung anderer Zwischenstoffe, vor sich gehen. Abgesehen von diesem theoretischen Interesse hat der niedrige Bilirubinwert des Serums bei diesen Krankheiten auch praktisch-diagnostische Bedeutung. So wird, wenn man sich im Zweifel befindet, ob ein Patient an perniziöser Anaemie oder an Karzinom leidet, ein niedriger Wert des Serumbilirubins sehr stark gegen perniziöse Anaemie sprechen, ja diese Krankheit fast mit Sicherheit auszuschlieszen gestatten.

Dem steht entgegen, dasz ein hoher Serumbilirubingehalt bei Karzinom, Nephritis, Phthisis (soweit unsre Erfahrung reicht, mit Sicherheit) auf eine Komplikation hinweist und zwar entweder auf eine Störung im Abflusz der Galle (Verlegung der kleineren oder gröszeren Gallenwege), oder auf eine Leberstauung infolge ungenügender Herztätigkeit.

Bei Karzinom des einen oder andern Organs besagt ein hoher Bilirubinwert also gewöhnlich, dasz sich Metastasen entwickelt haben, welche auf die Gallenwege drücken. Bemerkt man, dasz die Bilirubinwerte allmählich steigen und sich dem Schwellenwert zu nähern beginnen, dann kann man daraus das Entstehen von Ikterus vorhersagen. Denn dieser tritt ziemlich plötzlich auf, sobald der Schwellenwert überschritten wird. Das folgende Beispiel gibt hierzu eine Erläuterung:

Patient H., 41 Jahre alt, hatte seit einigen Monaten nicht genau zu deutende Beschwerden; besonders wurde er von Bauchschmerzen geplagt. Objectiv war nur eine leichte Zystitis zu finden, die durch lokale Behandlung schnell besser wurde. Die

Palpation des Bauches wurde durch Muskelspannung sehr erschwert. Patient war nicht abgemagert. Auch als die Entzündung der Harnwege zurückgegangen war, klagte Patient noch immer über Bauchschmerzen. Nach und nach wurde der Bauch etwas aufgetrieben und schlieszlich war es deutlich erkennbar, dasz freie Flüssigkeit in der Bauchhöhle vorhanden war. Jetzt fing Patient an abzumagern, und im Rectum wurde sehr hoch ein kleiner Tumor gefühlt. Weitere Beobachtung war unmöglich, weil Patient, Familienumstände halber, die Klinik verlassen muszte.

Der Bilirubingehalt der Ascitesflüssigkeit war sehr niedrig, der Bilirubingehalt des Blutserums am letzten Tage des Krankenhausaufenthaltes dagegen erhöht, nämlich 3 : 200.000. Patient war nicht ikterisch, in dem Urin waren keine Gallenfarbstoffe nachweisbar. Bei einer so groszen Menge Bilirubin im Serum eines Karzinomkranken muszte man vermuten, dasz eine Gallenstauung bestand, wahrscheinlich durch Druck auf die grossen Gallenwege verursacht. Es muszten Drüsenmetastasen im Omentum minus bestehen, und es war zu erwarten, dasz diese schnell weiterwachsen würden und dasz die Gallenstauung daher im Zunehmen begriffen wäre. Da der Schwellenwert des Bilirubins im Blutserum fast erreicht war, war anzunehmen, dasz bald Ikterus entstehen würde.

Wie gesagt, war weitere klinische Beobachtung dieses Patienten unmöglich. Wir teilten dem behandelnden Arzt aber unsre Prognose mit, und in der Tat berichtete er uns, dasz der Patient wenige Tage nach seiner Heimreise Ikterus bekommen hatte.

Wenn ein Patient mit chronischer Nephritis einen hohen Bilirubingehalt im Blutserum besitzt, so deutet dies beinahe ohne Ausnahme auf Inkompensation des Herzens hin. Nimmt der Bilirubingehalt zu, dann beweist dies, dasz der Zustand des Herzens schlimmer wird. Je kräftiger das Herz arbeitet, je mehr sinkt der Bilirubingehalt.

Nur einer scheinbaren Ausnahme von dieser Regel sind wir bis jetzt begegnet, die jedoch bei der Obduktion ihre Erklärung fand.

Bei diesem an Schrumpfniere leidenden Patienten fanden wir regelmäszig einen ziemlich beträchtlichen Bilirubinwert im Blutserum, ohne dasz je Anzeichen einer Inkompensation des

Herzens wahrgenommen werden konnten. Nachdem der Kranke an Uraemie gestorben war, brachte die Obduktion Gallensteine zu Tage.

---

§ 19. *Experimentelle anhepatische Bilirubinbildung.*

Die in § 16 mitgeteilten Untersuchungen, bei welchen für die perniziöse Anaemie eine anhepatische, lokale Bilirubinbildung in der Milz festgestellt werden konnte, führten uns dazu, zu untersuchen, ob auch bei der Behandlung von Tieren mit Blutgiften anhepatische Gallenfarbstoffbildung, namentlich in der Milz, nachgewiesen werden könnte.

Die Wirkung von Giften auf das Blut ist seit vielen Jahren von einer Reihe von Forschern studiert worden. Namentlich hat man viele Versuche mit Toluylendiamin gemacht. Auszerhalb des Körpers übt diese Substanz keinen auflösenden Einflusz auf die roten Blutkörperchen aus; nach Einspritzung bei Hunden veranlaszt sie dagegen eine starke Anaemie mit Gelbsucht. Anfangs glaubte man, dasz die Toluylendiamin-Anaemie mit der klinischen perniziösen Anaemie völlig übereinstimme. Gegen diese Auffassung wandte sich PAPPENHEIM. Nach ihm läszt das Toluylendiamin stets eine hypochrome Anaemie (niedriger Färbeindex, Fehlen von Erythroblasten) entstehen, die mit den sekundären Anaemien der Klinik übereinstimmt, dagegen von der echten perniziösen Anaemie (Typus ADDISON) ganz verschieden ist. Unter allen Giften sollten nur einzelne vorkommen (das Phenylhydrazin und die mit ihm im chemischen Bau übereinstimmenden Stoffe, und das Nitrobenzol), welche beim Tierexperiment eine hyperchrome, mit der perniziösen Anaemie übereinstimmende Anaemie hervorriefen. Ob man bei der experimentellen Phenylhydrazineinspritzung auf das Entstehen von Ikterus geachtet hat, ist uns nicht bekannt.

Wir selbst haben Versuche gemacht mit Einspritzungen von Toluylendiamin und von Phenylhydrazin bei Hunden. Andere Versuchstiere haben wir absichtlich nicht gebraucht, weil es bekannt ist, dasz Kaninchen Toluylendiamin gegenüber sehr refractair sind, während Katzen unter dem Einflusz dieses Giftes eine starke Haemoglobinurie, aber keinen Ikterus bekommen. Es ist, wie schon erwähnt, seit langem bekannt, dasz

Hunde durch Toluylendiamin schwere Anaemie und starken Ikterus bekommen. Ueber das Entstehen dieser Gelbsucht bestehen zwei Ansichten. Einige Forscher nehmen an, dasz das Gift geradeswegs auf das Lebergewebe einwirke und also hepatotoxisch den Ikterus hervorbringe. Andere meinen, das Toluylendiamin verursache auf einem Umwege die Gelbsucht. Sie stellen sich vor, dasz das in den Körper eingeführte Toluylendiamin auf die eine oder andere Weise zu einer sehr weitgehenden Vernichtung roter Blutkörperchen Veranlassung gebe; aus dem auf diese Weise frei gewordenen Haemoglobin werde eine abnormal grosze Menge Bilirubin gebildet, die Galle werde dicker, fliesze schwieriger durch die Kanälchen, und auf solche Weise entstehe ein (sog. pleiochromer) Ikterus. Nach dieser Theorie würde also die abnormal starke Blutdestruktion der Toluylendiaminvergiftung die Gelbsucht auf einem Umwege zu stande bringen. Ueber die Stelle, wo die angenommene Blutdestruktion stattfinden soll (Milz oder anderswo) und hinsichtlich der Kräfte, die sie bewirken sollen (Haemolysinen, Abnahme des Widerstandes der roten Blutkörperchen), bestehen allerlei verschiedene Auffassungen. Darüber wollen wir uns hier nicht verbreiten, denn sie sind ohne Bedeutung für die Frage, welche wir uns gestellt haben: Ist es möglich bei experimenteller Vergiftung mit Toluylendiamin eine anhepatische Gallenfarbstoffbildung nachzuweisen?

Für unsere Experimente gebrauchten wir sieben Hunde. Wir spritzten $\frac{1}{2}$ bis 1 gr. Toluylendiamin, in Alkohol gelöst, ein (von den verschiedenen Isomeren gebrauchten wir das 1. 2. 4. Präparat). Dreimal 24 Stunden nach der Einspritzung wurde einerseits aus der Milzader, andrerseits aus einer peripheren Ader oder aus der Milzschlagader Blut entnommen.

In all unsern Fällen fanden wir nun, dasz dreimal 24 Stunden nach der Einspritzung eine starke Gelbsucht bestand (gelbgefärbte Sclerae, Gallenfarbstoff im Urin), während das Blutserum sehr viel Bilirubin enthielt. Ein Mal betrug diese Menge 1 : 2700, ein auszergewöhnlich hoher Wert. Dagegen war in jenem Augenblick der Haemoglobingehalt des Blutes niemals verringert, häufig sogar etwas höher als normal, und das Serum enthielt keine Spur von freiem Haemoglobin. Die roten Blutkörperchen waren an Zahl nicht vermindert. Im gefärbten Präparat war kein einziges Zeichen zu finden, das auf Blut-

auflösung hinweisen konnte, von einer leichten Polychromatophilie abgesehen. Die Milz der Versuchstiere war gröszer als in normalem Zustande. In allen Fällen bis auf einen war die Bilirubinmenge in der Milzschlagader und in der Milzader gleich grosz. Dies liesz sich in zweifacher Weise nachweisen: die Intensität der gelben Farbe beider Sera war vollkommen gleich. Bestimmte man dann im Alkoholextrakt beider Sera das Bilirubin mittels EHRLICH'S Diazoreagenz, dann erhielt man ebenfalls einen vollkommen gleichen Wert.

Nur in einem Fall (Hund VII) war die Farbe des Milzaderserums ein klein wenig intensiver gelb als die der Milzschlagader, während in Uebereinstimmung damit das Milzaderserum eine Spur Bilirubin mehr enthielt als das periphere Serum.

Als Beispiel geben wir das Protokoll eines dieser Experimente.

Kleiner Hund (Gewicht 6 K.G.) Haemoglobingehalt (SAHLI) 110 %. Am 29. Juli 1914 wurde 0.5 gr. Toluylendiamin, in etwa 10 cm^3 Alkohol aufgelöst, subkutan eingespritzt.

Am. 1. August. 1914 war viel Bilirubin im Urin. Die Sclerae waren ikterisch. Der Haemoglobingehalt betrug 105 %. Das Blutpräparat zeigte auszer einer leichten Polychromatophilie keine Abweichungen. Es wurde aus der Milzvena und aus der V. jugularis Blut entnommen. Das Serum war sehr gelb, enthielt jedoch nur Spuren von Blutfarbstoff. Beim Vergleich des Gallenfarbstoffgehalts des Milzvenenserums und des peripheren Serums wurde kein Unterschied gefunden.

Die Milz war in diesem Falle ziemlich stark vergröszert.

Die sieben Experimente gaben ein unzweideutiges Resultat. Durch Einspritzung von 0.5—1 gr. Toluylendiamin bei Hunden entsteht nach kurzer Zeit ein starker Ikterus ohne Zeichen von Blutdestruktion. Die Ursache des Ikterus im ersten Stadium der Toluylendiaminvergiftung ist also nicht in einer Blutzerstörung zu finden; die Gelbsucht musz einer direkten Wirkung des Giftes auf die Leber zugeschrieben werden. Eine anhepatische Gallenbildung in der Milz findet bei dieser Vergiftung entweder gar nicht, oder in äuszerst geringem Masze statt. Die durch das Toluylendiamin verursachte Anaemie tritt erst später nach der Einspritzung auf.

So fanden wir, wenn wir das Blut fünfmal 24 Stunden nach der Einspritzung untersuchten, dasz das Haemoglobin sich stark vermindert hatte (bis zu 50 %), und dasz ebenso die

Zahl der roten Blutkörperchen stark zurückgegangen war. Im gefärbten Präparat waren alle Zeichen vorhanden, die man bei der perniziösen Anaemie findet, wie: Anisozytose, Poikilozytose, Polychromatophilie, kernhaltige rote Zellen, Megaloblasten. Das Serum enthielt auch dann noch viel Bilirubin; zwischen Milzaderblut und Blut aus den peripheren Adern wurde auch in diesem späten Stadium kein Unterschied im Bilirubinwert angetroffen. [1])

Die von uns bemerkte Tatsache, dasz bei der Toluylendiaminvergiftung verschiedene Stadien unterschieden werden müssen, wurde bereits von Gilbert [2]) festgestellt. Dieser untersuchte den Widerstand der roten Blutkörperchen gegen schwache Kochsalzlösungen zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Einspritzung und fand, dasz der Ikterus der Erniedrigung der Resistenz der roten Blutkörperchen immer voranging.

Zu einer gleichen Schluszfolgerung gelangte Stouffs. [3])

Das Ergebnis dieses Teiles dieser Untersuchungen kann folgendermaszen zusammengefaszt werden:

Die Bilirubinaemie, welche im ersten Stadium der Toluylendiaminvergiftung zur Erscheinung kommt, ist nicht die Folge einer abnorm starken Blutdestruktion. Eine anhepatische Gallenfarbstoffbildung in der Milz kann dabei nicht nachgewiesen werden.

Die Wirkung des Phenylhydrazins ist in den letzten Jahren namentlich von Pappenheim's Schülern studiert worden; diese haben vor allem dem gefärbten Blutpräparat ihre Aufmerksamkeit gewidmet.

Für unsre Experimente mit Phenylhydrazin haben wir zehn Hunde gebraucht. Eingespritzt wurde 0.5—1 cm³ Phenylhydrazin. Bei Einspritzung von 1 cm³ des Giftes wurde in den meisten Fällen 24 Stunden nach der Einspritzung eine starke Haemoglobinurie wahrgenommen. Allmählich nahm diese Haemoglobinurie ab; nach dreimal 24 Stunden war sie fast ganz

[1]) Ein einziges Mal wurde in dem Milzvenenserum eine Spur von freiem Haemoglobin angetroffen, aber stets so wenig, dasz es nur mit dem Spektroskop mit Sicherheit zu erkennen war. Beiläufig sei hier bemerkt, dasz zu all diesen Hundeexperimenten, ebenso zum Entnehmen von Milzaderblut bei Menschen nach einer Operation oder nach dem Tode, viel Uebung nötig ist, um das Serum zu erhalten, ohne dasz man künstlich rote Blutzellen vernichtet und Haemoglobin frei macht.

[2]) Gilbert, C. R. Soc. de Biol. 1910.

[3]) Stouffs, Arch. internat. de Pharmacod. T. 22.

verschwunden. Falls kleinere Mengen des Hydrazins eingespritzt worden waren, kam es nicht zur Haemoglobinurie. Gewöhnlich wurde dreimal 24 Stunden nach der Einspritzung Blut aus der Arteria und aus der Vena lienalis entnommen. Bestand in jenem Augenblick Haemoglobinurie, dann zeigte sich, dasz die beiden Blutsera freies Haemoglobin enthielten. Auch wenn der Blutfarbstoff bereits aus dem Urin verschwunden war, wurde er noch während einiger Tage im Serum angetroffen.

Das erste, was bei all diesen Experimenten auffiel, war eine auszerordentlich starke Vergröszerung der Milz, die 4—5 mal so grosz war als das normale Organ des Hundes und viel gröszer als bei der Vergiftung mit Toluylendiamin. Der Haemoglobingehalt des Blutes war beträchtlich verringert, die Zahl der roten Blutkörperchen vermindert; im gefärbten Präparat wurden starke Veränderungen, nämlich Anisozytose, Polychromatophilie, punktierte rote Blutkörperchen, Megaloblasten angetroffen. Das zu dieser Zeit entnommene Blutserum enthielt stets Bilirubin, jedoch viel weniger als bei den Toluylendiamin-Hunden gefunden worden war; nach unsrer Bestimmung höchstens 1 : 90.000, meistens weniger. Wenn man den Zeitpunkt der Blutentnahme günstig wählte, ungefähr dreimal 24 Stunden nach der Einspritzung, traf es manchmal zu, dasz das Blutserum nicht so viel freies Haemoglobin enthielt, oder man konnte, nach Verdünnung mit Wasser, die gelbe Farbe des Milzschlagader- und des Milzaderserums bereits sofort vergleichen. Ausnahmslos war dann das Milzaderblut viel intensiver gelb gefärbt als das Milzschlagaderblut. Durch Verdünnung konnte man herausfinden, dasz das Milzaderserum 2—3 mal so viel gelben Farbstoff enthielt als das Schlagaderserum. [1])

Natürlich musz man darauf achten, dasz man sich nicht durch die rote Farbe des gelösten Haemoglobins irre führen läszt. Man musz noch eine andere Fehlerquelle vermeiden: wenn man das Blut längere Zeit nach der Einspritzung

---

[1]) Auszer Bilirubin und Haemoglobin enthält das Serum (und ebenso Urin und Galle) der Hunde nach der Phenylhydrazinvergiftung noch einen andern Farbstoff, der auch in vitro durch die Einwirkung von Phenylhydrazin auf Blutfarbstoff entsteht. Hierauf soll an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden. Haematin und anorganisches Eisen werden im Serum weder bei der Vergiftung mit Toluylendiamin noch bei der mit Phenylhydrazin angetroffen.

entnimmt, ist nämlich das Serum oft ganz oder beinahe ganz haemoglobinfrei, aber dann ist zugleich der Unterschied im Farbstoffgehalt von Milzader- und Schlagaderblut verschwunden. *Diesen Unterschied kann man nur während der ersten 3 mal 24 Stunden nach der Einspritzung feststellen.* Es ist also für die Ausführung des Experiments nötig, das Blut nicht später als 3 mal 24 Stunden nach der Einspritzung zu entnehmen. In den meisten Fällen erhält man dann ein Serum, welches so stark durch Haemoglobin rot gefärbt ist, dasz über die gelbe Farbe kein Urteil abgegeben werden kann. Es fehlt uns dann die Möglichkeit einer direkten Vergleichung der Intensität der gelben Farbe von Ader- und Schlagaderblut und man ist also gezwungen den Bilirubingehalt nach der früher beschriebenen Methode zu bestimmen. Ausnahmslos fanden wir das Alkoholzentrifugat des Milzaderblutes viel (zwei- bis dreimal) reicher an gelbem Farbstoff als das Schlagaderblut. Nahmen wir danach die Diazoreaktion vor, dann fanden wir ebenfalls einen zwei- bis dreimal gröszeren Bilirubinwert.

Auch von dieser Reihe unsrer Experimente sei ein Beispiel aus unsern Protokollen mitgeteilt:

Hund von 17 K.G. Haemoglobingehalt des Blutes 110% (Sahli).

Am 12. April 1915 wurde 0.8 cm³ Phenylhydrazin subkutan eingespritzt.

15. April 1915. Der Urin enthält noch viel Haemoglobin. Haemoglobingehalt des Blutes 50%.

Im gefärbten Präparat: starke Anisozytose und Polychromatophilie. Viele Megaloblasten. Es wird aus der Milzader und aus der Milzschlagader Blut entnommen. Blutpräparate aus der peripheren Ader und aus der Milzader geben dasselbe mikroskopische Bild.

Das Blutserum enthält viel gelöstes Haemoglobin, das Milzaderblut nicht sichtbar mehr als das Schlagaderblut.

Je ein Volumen Blutserum aus der Milzader und aus der Schlagader werden mit 3 Vol. Alkohol gefällt. Das Zentrifugat des Aderserums ist viel stärker gelb gefärbt als das des Schlagaderserums. Die Bestimmung mittels der Diazo-Reaktion lehrt, dasz in ersterem dreimal so viel Bilirubin enthalten ist als in letzterem.

Zusammenfassung dieser zehn Phenylhydrazin-Experimente lehrt:

Einspritzung von Phenylhydrazin bei Hunden ruft nach kurzer Zeit eine starke Blutdestruktion hervor mit einem mikroskopischen Blutbild, das vollkommen dem der perniziösen Anaemie gleicht. Zu gleicher Zeit kommt es zu einer mäszigen Bilirubinaemie. In der Milzader wird viel mehr Bilirubin angetroffen als in der Milzschlagader. Eine starke lokale Gallenfarbstoffbildung in der Milz, also eine anhepatische, kann bei der Phenylhydrazinvergiftung des Hundes kurze Zeit nach der Einspritzung mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Es ist leicht zu beweisen, dasz bei dieser experimentellen Vergiftung met Phenylhydrazin, ebenso wie bei der klinischen perniziösen Anaemie, die Milz nicht das einzige Organ ist, in welchem Blutdestruktion und Bilirubinbildung stattfinden.

Am 22. Mai 1915 wurde bei einem Hund die Milz weggenommen. Fünf Tage später, also am 27. Mai, wurde 1 cm^3 Phenylhydrazin eingespritzt. Am 30. Mai 1915 wurde das Blut untersucht.

Der Haemoglobingehalt betrug vor der Einspritzung 120%, danach 50%; Zählung der roten Blutkörperchen nach der Einspritzung miszlang, da das Blut im Mischapparat gerann. Vor der Einspritzung betrug die Zahl der Erythrozyten 8.080.000. Im Blutserum eine mäszige Menge Bilirubin. Das mikroskopische Präparat zeigte keine Normoblasten oder Megaloblasten, wohl aber Anisozytose und polychromatophile Zellen.

Bei diesem milzlosen Hund wurde also durch das Phenylhydrazin, ebenso gut wie bei den früheren, nicht operierten Tieren, das Blut abnormal stark destruiert mit Bildung von Bilirubin.

Vergleichen wir die experimentelle Vergiftung mit Toluylendiamin und die mit Phenylhydrazin mit einander, dann bemerken wir beträchtliche Unterschiede, die folgendermaszen zusammengefaszt werden können:

Vergiftung mit Toluylendiamin 3 × 24 Stunden nach der Einspritzung.

Milz vergröszert.

Haemoglobin im Blut *nicht* vermindert.

Zahl der roten Blutkörperchen *nicht* vermindert.

Keine Haemoglobinaemie.

Mikroskopisches Bild: *keine* Zeichen von Blutdestruktion oder Regeneration.

Sehr starke Bilirubinaemie.

Kein oder äusserst geringer Unterschied im Bilirubingehalt von Milzader und Schlagader und also kein Anzeichen für das Vorkommen anhepatischer Gallenfarbstoffbildung (es sei etwa in Spuren).

Vergiftung mit Phenylhydrazin 3 × 24 Stunden nach der Einspritzung.

Milz auszergewöhnlich stark vergröszert.

Haemoglobin im Blut *stark* vermindert.

Zahl der roten Blutkörperchen *stark* vermindert.

Haemoglobinaemie.

Mikroskopisches Bild: Zeichen von Blutdestruktion und Regeneration; zeigt sehr viel Uebereinstimmung mit dem Bild der echten perniziösen Anaemie.

Mäszige Bilirubinaemie.

Sehr *beträchtlicher* Unterschied zwischen Milzaderblut und Schlagaderblut betreffs Bilirubingehalt: also sicherer Beweis für lokale, anhepatische Gallenfarbstoffbildung in der Milz.

Wir erfahren aus allen diesen Beobachtungen, dasz die Toluylendiaminvergiftung in manchen Punkten beachtenswerte Unterschiede mit der perniziösen Anaemie aufweist, dasz jedoch die Vergiftung mit Phenylhydrazin mit dieser eine auffallende Uebereinstimmung zeigt, vor allem darin bestehend, dasz bei ihr eine anhepatische Gallenfarbstoffbildung mit Sicherheit nachgewiesen werden kann.

Nachdrücklich machen wir darauf aufmerksam, dasz die kleinen Unterschiede im Bilirubingehalt, auf welche es hier ankommt, nur mittels einer so äuszerst empfindlichen Methode nachgewiesen werden können, wie es die von uns angewandte Azoreaktion ist. Wenn man diese Fragen mit Hilfe von weniger scharfen oder weniger empfindlichen Methoden, z. B. der GMELIN'schen Reaktion oder einer ihrer Abänderungen, studiert, dann kann man nicht zu zuverlässigen Ergebnissen gelangen.

VII. KAPITEL.

Betrachtungen über die Entstehung gewisser Ikterusformen.

§ 20. *Mechanischer und dynamischer Ikterus.*

Wir glauben, dasz die von uns mittels der Bestimmung des Gallenfarbstoffes im Blute erhobenen Befunde uns vielleicht eine bessere Einsicht in die Entstehung gewisser Ikterusformen gewähren. Man kann nicht sagen, dasz die Pathogenese von jenen Gelbsuchtfällen, wo ein grobes, die Gallengänge mechanisch verlegendes Hindernis fehlt, im ganzen auf befriedigende Weise geklärt sei. Am einfachsten war die Vorstellung STADELMANN's. Auf Grund seiner Tierexperimente meinte dieser Forscher, bei dem toxischen Ikterus werde durch einen vermehrten Zerfall der roten Blutkörperchen eine sehr farbstoffreiche, intensiv gefärbte, dickflüssige Galle gebildet. Durch den normalen, niedrigen Sekretionsdruck der Leber könne diese zähflüssige Galle nicht in dem Masze entleert werden, wie sie sich bildet; in Folge dessen komme es zu einer Stauung der Galle in der Leber, und also eigentlich zu einem mechanischen Stauungsikterus. Indessen hat diese Theorie STADELMANN's allgemeinen Anklang nicht gefunden; in der Tat ist es schwer einzusehen, wie ein erhöhter Farbstoffgehalt der Galle diese zähflüssig machen sollte: kommt doch die Erhöhung der Viskosität der Galle durch einen vermehrten Bilirubingehalt nicht in Betracht. Tatsächlich fand denn auch PICK [1]) bei gewissen Ikterusfällen eine Vermehrung der Viskosität erst, als sich bereits eine deutliche Gelbsucht entwickelt hatte, nicht vorher. Eine Vermehrung der Viskosität der Galle wird, nach unsrer Meinung, nicht durch einen vermehrten Bilirubingehalt, sondern durch eine relative oder absolute Vermehrung der Schleimmenge zustandekommen, also durch eine erhöhte Schleimbeimengung in Folge eines Katarrhs der feinen Gallengänge, oder durch Wasserverarmung der Flüssigkeit. Viele Fälle von infektiösem oder toxischem Ikterus finden nach neueren Ansichten tatsächlich in einer entzündlichen Schwellung feiner Gallengänge ihre Erklärung.

---

[1]) PICK, Wiener klin. Wochenschr. 1893 und 1894.

In jenen Fällen, wo man eine derartige Cholangitis nicht nachweisen kann, hat die Erklärung EPPINGER's viel Anerkennung gefunden. [1]) Bekanntlich hat dieser fruchtbare Forscher in einer Reihe von Ikterusfällen in den feinen Gallenwegen die sogenannten Gallenthromben nachgewiesen, oder jedenfalls, wo diese schon früher bekannt waren, ihre grosze Bedeutung erkannt und hervorgehoben. Die durch die Gallenthromben verursachte Verlegung der feinen Gallenwege führt zu ihrer konsekutiven Erweiterung und Zerreiszung und folglich zur Resorption der Galle. Die Befunde EPPINGER's sind vielfach bestätigt worden und auch die von ihm gegebene Deutung wurde von vielen Seiten anerkannt. Zwar macht MINKOWSKI [2]) darauf aufmerksam, dasz man derartige Thromben nicht in frischen, sondern nur in älteren Fällen von Ikterus findet, und dieser Forscher meint, sie seien nicht Ursache des Ikterus, sondern Folge der zu Ikterus führenden Funktionsstörungen der Leberzellen. Nehmen wir aber an, die Gallenthromben EPPINGER's seien in der Tat in vielen Fällen von Ikterus Ursache der Gallenstauung. Auch dann noch bleiben zahlreiche Formen von Gelbsucht übrig, deren Pathogenese nicht geklärt ist. Denn durchaus nicht in allen Fällen hat man die Thromben nachweisen können. Ein so befugter Beurteiler wie R. KRETZ, [3]) der sich der Deutung EPPINGER's im wesentlichen anschlieszen zu müssen glaubt, gibt dennoch zu, dasz Gelbsuchtfälle vorkommen, „in denen der Nachweis von Gallenthromben, trotzdem sie nach dem ganzen Habitus nicht in das Bild des Obstruktionsikterus mit Verschlusz der groszen Gallengänge gehören, weder in der Literatur noch in einigen Fällen, die (er) Gelegenheit zu untersuchen hatte, bisher gelungen ist." Und KREHL sagt: [4]) „Andererseits musz aber durchaus eingestanden werden, dasz die Konstruktion dieser Hindernisse in einer ganzen Reihe von Fällen eine mehr oder weniger hypothetische ist, dasz mindestens bei vielen krankhaften Zuständen, die mit Ikterus einhergehen, von einem allgemein gesicherten Nachweis mechanischer Hem-

---

[1]) H. EPPINGER, Ikterus, Ergebnisse der inneren Medizin und Kinderheilkunde, 1908, S. 107. Daselbst Literatur.

[2]) Zitiert nach EWALD, Die Leberkrankheiten, Leipzig, 1913, S. 36.

[3]) R. KRETZ, in: KREHL und MARCHAND, Handb. d. allgem. Pathologie, Bd. II, 2e Abt., S. 476.

[4]) KREHL, Pathologische Physiologie, 7e Aufl., S. 369.

mungen keine Rede ist." Auch gewisse von uns erhobene Befunde, über welche in früheren Kapiteln berichtet wurde, können in der Gallenthromben-Theorie nicht ihre Erklärung finden. Es scheint uns sehr wenig wahrscheinlich, dasz die physiologische Hyperbilirubinaemie, die bei so zahlreichen Menschen angetroffen wird, ebenso der hohe Bilirubinwert des Pferdeblutes, auf die Bildung von Gallenthromben mit folgender Erweiterung der Gallengänge und deren Zerreiszung zurückzuführen sei. Bekanntlich haben solche Betrachtungen schon viele Forscher dazu geführt, für die Entstehung gewisser Ikterusfälle die Leberzelle verantwortlich zu stellen. LIEBERMEISTER meinte, die Leberzellen seien, wenn sie bedeutende pathologische Veränderungen erlitten haben, nicht mehr im Stande die Galle vollständig zurückzuhalten und ihre Diffusion in Blut und Lymphe zu verhindern. Andere glauben, die kranke Leberzelle gebe in gewissen Fällen, in Folge einer Art von Sekretionsanomalie, die von ihr bereiteten Gallenbestandtteile nach der Seite der Blutgefäsze hin ab, statt nach den Gallenkapillären. Alle diese Theorien scheinen uns gekünstelt und nicht mit den Tatsachen in Uebereinstimmung. Jedenfalls scheinen sie uns nicht im stande, die täglich zu beobachtende Erscheinung zu erklären, dasz eine selbe Zelle, die die Galle vortrefflich zu bereiten fähig ist, im selben Augenblick eine andere Funktion, nämlich die Ausscheidung des Produktes, vermiszt.

Wir sind der Ansicht, dasz die Entstehung gewisser Ikterusformen nur dann verständlich ist, wenn angenommen wird, dasz die Bildung und die Ausscheidung der Gallenbestandteile an verschieden Stellen stattfinden.

Zu dieser Annahme kann aber die Mehrzahl der Autoren sich nicht entschlieszen. Auf Grund der berühmten Versuche von NAUNYN und MINKOWSKI hält man daran fest, dasz der Gallenfarbstoff nur in der Leber gebildet werde, oder jedenfalls, dasz ohne die Beteiligung der Leber kein Ikterus entstehe; und man meint, dasz die Annahme einer räumlichen Trennung von Gallenfarbstoffbereitung und Ausscheidung mit dieser Theorie nicht in Einklang zu bringen sei.

Bekanntlich haben NAUNYN und MINKOWSKI Vögel mit Arsenwasserstoff vergiftet, wobei einige das Gift erhielten, ohne operiert zu sein, andere nach Exstirpation der Leber. Dabei zeigte sich, dasz in allen Fällen, in denen die Leber funktionierte,

ein starker Ikterus entstand, dasz dieser aber bei den Versuchstieren, deren Leber entfernt worden war, ausblieb. MINKOWSKI beobachtete sogar bei den vergifteten Vögeln eine Abnahme des Ikterus nach Entfernung der Leber. MC NEE, [1]) der vor einigen Jahren in ASCHOFF's Laboratorium diese Versuche wiederholte, kam zu völlig gleichen Ergebnissen. Es ist jedoch die Frage, ob man diesen bei Vögeln erhaltenen Befund für Säugetiere, und namentlich für den Menschen, gelten lassen kann. Zeigt doch die histologische Untersuchung, dasz gerade hinsichtlich der Leberstruktur zwischen höher und niedriger stehenden Tieren beachtenswerte Unterschiede bestehen. Wir selbst fanden nicht geringere Unterschiede zwischen verschiedenen Tieren, was den Bilirubinwert ihres Blutserums unter normalen Umständen betrifft. Wir erinnern noch einmal daran, dasz das Pferd unter physiologischen Umständen zwar individuell verschiedene, aber doch stets recht grosze Mengen Gallenfarbstoff in seinem Blutserum beherbergt, zuweilen sogar sehr viel. Dabei enthält der Urin nahezu keinen Gallenfarbstoff. Der Schwellenwert für die Ausscheidung von Bilirubin durch die Nieren musz also beim Pferde hoch liegen. Das Rinderserum enthält wenig Bilirubin. Das Blutserum von Vögeln enthält wenig Bilirubin. Das Serum aller andern von uns untersuchten Tiere enthielt keine oder kaum nachweisbare Spuren von Bilirubin. Wir erwähnten auch schon den Hund. In seinem Blutserum fanden wir nur Spuren von Bilirubin. Es ist jedoch bekannt, und wir machten schon früher darauf aufmerksam, dasz im Urin dieses Tieres unter allerlei kaum pathologischen Umständen, z. B. nach einem Tage Hungern, Bilirubin nachgewiesen werden kann. Wir erwähnten schon die Beobachtung, dasz ein Hund, der nach 2 × 24 Stunden Fasten mit dem Urin Gallenfarbstoff ausschied, in jenem Augenblick ein bilirubinfreies Blutserum hatte. Will man nicht eine Gallenfarbstoffbildung in der Niere vermuten, so musz man also annehmen, dasz beim Hund — im Gegensatz zu Pferd und Mensch — der Schwellenwert für die Bilirubinausscheidung durch die Nieren auszergewöhnlich niedrig ist. Wir erwähnen diese Tatsachen um davor zu warnen, Resultate betreffs der Bilirubinbildung, die man bei dem einen Tiere erhält, zu schnell auf eine andre Tierart zu übertragen.

[1]) MC NEE, Mediz. Klinik, 1913, No. 28, S. 1125.

Die Versuche von NAUNYN und MINKOWSKI können allerdings bei Säugetieren nicht vorgenommen werden, weil diese eine Leberexstirpation nicht überleben. Wenn nun auch auf Grund der oben angeführten Unterschiede zwischen den verschiedenen Tierarten, nicht mit völliger Sicherheit bewiesen werden kann, dasz die Bilirubinbildung beim Menschen unter physiologischen Umständen in der Leber vor sich geht, so musz doch, unsrer Meinung nach, die Wahrscheinlichkeit dieser Annahme zugegeben werden. Verschiedentlich haben wir bei Menschen, die an andern als Leber- oder Blutkrankheiten gestorben waren, so bald wie möglich nach dem Tode das Blutserum, welches der Vena cava inferior oberhalb den Venae hepaticae, und solches, welches aus der Vena portae entnommen worden war, auf seinen Bilirubingehalt untersucht. Dabei erhielten wir ausnahmslos gleiche Werte. Wäre die Leber nur Ausscheidungs- und nicht auch zugleich Abscheidungsorgan, dann würde man in dem Portablut einen höheren Wert als in dem Blut oberhalb der Leber erwarten müssen. Nehmen wir also an, dasz die physiologische Bilirubinbildung hauptsächlich, oder sogar ganz, in der Leber vor sich geht, und ist also die Leber gleichzeitig Abscheidungs- und Ausscheidungsorgan für den Gallenfarbstoff, so folgt daraus noch keineswegs, dasz diese zwei Funktionen in denselben Zellen stattfinden oder an die gleichen Zellenelemente gebunden sein müssen. Man kann sich das Entstehen des Ikterus unter allen Umständen vorstellen, wenn man annimmt, dasz gewisse Elemente der Leber das Bilirubin bereiten, während andere Elemente es in die Gallenwege ausscheiden. Welche Elemente mit der Abscheidung belastet sind, welche mit der Ausscheidung, darüber haben wir kein eigenes Urteil, weil wir darüber keine Untersuchungen vorgenommen haben. Die Auffassung MC. NEE's, dessen Untersuchungen wir bereits erwähnten, ist jedenfalls beachtenswert: dasz nämlich die KUPFER'schen Zellen die Umsetzung des Haemoglobins in Bilirubin bewerkstelligen, während die Leberzellen mit der Ausscheidung des Gallenfarbstoffs belastet wären.

Zu einer sehr ähnlichen Anschauung ist auf Grund mikroskopisch-anatomischer Untersuchungen E. GÉRAUDEL [1]) gekommen.

---

[1]) E. GÉRAUDEL, Journ. de physiol. et de patholog. générale, 1906, T. VIII, S. 69 und 103.

langt. Dieser Forscher meint, es seien am Leberparenchym zwei verschiedene Teile zu unterscheiden: ein portaler und ein zentraler Teil (zône porte und zône sushépatique). Nur die Zellen der zône sushépatique dienen zur Ausscheidung der Galle; die Zellen der zône porte aber dienen zu ihrer Bildung. Sie werfen die von ihnen bereitete Galle in ein Blutkapillar, das den Leberzellen entlang verläuft, und auf diese Weise wird die Galle den ausscheidenden Zellen der zône sushépatique zugeführt.

Lassen wir aber die Frage ruhen, welche Zellen in der Leber es sind, welche den Gallenfarbstoff bereiten, und welche ihn ausscheiden, aber halten wir an der Vorstellung fest, dasz diese beiden Funktionen auf zwei verschiedene Elemente verteilt sind. Die Zellen, welche zur Exkretion des Gallenfarbstoffs dienen, erhalten diesen mit dem Blute zugeführt, in welches die sezernierenden Zellen den Farbstoff ausgegossen haben. Beachtung verdient noch das in pathologischen Verhältnissen anhepatisch gebildete Bilirubin, über das wir früher ausführlich gehandelt haben. Auch dieses wird schlieszlich den ausscheidenden Zellen zugeführt und von ihnen ausgeschieden.

Die sezernierenden Leberzellen werden jedoch nicht das Bilirubin, welches in dem sie umspülenden Blut enthalten ist, quantitativ ausscheiden, sondern ein gewisser Prozentsatz desselben wird im Blut zurückbleiben. Dasselbe sehen wir auch bei anderen Drüsen: so läszt auch die Niere stets einen gewissen Teil der Gesamtmenge der Stoffe (Ureum, Zucker, Kochsalz), die in dem sie durchströmenden Blut enthalten sind, in diesem zurück. Wie grosz der Prozentsatz ist, der unausgeschieden bleibt, wird von zahlreichen Faktoren abhängen. In erster Linie von der Tierart: wie wir annehmen müssen, ist bei den meisten Tieren die Ausscheidung des Bilirubins durch die Leberzellen vollständiger als beim Menschen und beim Pferde. Ferner wird es von der Funktionstüchtigkeit der Leberzellen abhängen, die bei verschiedenen Menschen, und wohl auch bei einem und demselben Menschen zu verschiedenen Zeiten nicht immer der gleiche zu sein braucht.

Bei dem Diabetes sehen wir, dasz der Blutzuckergehalt erhöht ist, obwohl die Nieren Zucker ausscheiden. Diese Organe suchen zwar so viel Zucker wie möglich aus dem Körper zu entfernen, können aber den Glukosegehalt des Blutes nicht auf der normalen Höhe halten. Wenn auch die Nieren um so gröszere

Mengen ausscheiden, je mehr Glukose im Blut enthalten ist, so steigt doch der Blutzuckergehalt.

Ebenso werden die Leberzellen, wenn ihnen eine übernormale Menge Bilirubin angeboten wird, zwar mehr Gallenfarbstoff als normal in die Gallengänge ausscheiden, aber sie werden auch mehr im Blute unausgeschieden zurücklassen. Wenn den Leberzellen abnormale Mengen Bilirubin zugeführt werden, musz der Bilirubingehalt des Blutes also steigen. Es ist natürlich gleichgültig, ob dieses Mehr an Bilirubin infolge erhöhter Blutdissolution in der Leber, in den normalen Werkstätten der Bilirubinbildung, entstanden ist, oder aber, ob es sich anhepatisch, sei es in der Milz oder anderswo, gebildet hat, oder ob es von einer Resorption haemorrhagischer Exsudate, in denen es zur Bildung von Gallenfarbstoff gekommen war, herrührt.

Es ist auch sehr verständlich, dasz es in diesen Fällen nicht leicht zu einer starken Erhöhung des Bilirubingehalts des Blutes kommen wird; denn, wenn auch die Leberzellen einen gewiszen Prozentsatz des ihnen zugeführten Bilirubins zurücklassen, die bei weitem gröszere Menge Bilirubin wird trotzdem in die Galle ausgeschieden. Wir haben im § 11 gesehen, dasz es nur dann zu einem echten Ikterus mit Bilirubinurie kommt, wenn der Bilirubingehalt des Blutserums einen ziemlich hohen Schwellenwert überschreitet. Da es hierzu in Fällen erhöhter Blutzerstörung nicht leicht kommen wird, so wird auch in diesen Fällen nur selten ein stärkerer Ikterus mit Bilirubinurie entstehen.

Daher kommt es bei diesen Krankheiten (haemolytischer Ikterus, perniziöse Anaemie u. s. w.) auch nur zu einer verhältnismäszig geringen ikterischen Verfärbung der Haut und der Schleimhäute ohne Bilirubinurie: acholurischer Ikterus.

Auch bei einer normalen Zufuhr von Bilirubin nach den Leberzellen, und bei ungehindertem Abflusz der Galle, wird es nach den hier entwickelten Anschauungen zu einer Erhöhung des Bilirubingehalts im Blut kommen können, nämlich dann, wenn die Leberzellen in ihrer sezernierenden Funktion gelitten haben. Auszer bei Leberkrankheiten wird dieser Fall bei einer beginnenden Kompensationsstörung des Herzens vorkommen. Wie alle Zellen durch eine Kompensationsstörung leiden (man denke an die Nierenelemente), so wird dies auch bei den Leberzellen der Fall sein.

Auch eine Rückstauung im Gebiet der Gallenwege wird sich zuerst in einer verminderten Ausscheidungsfähigkeit der Leberzellen für das Bilirubin äuszern, genau in der Weise wie das für die Urobilinausscheidung angenommen wird. Im allgemeinen scheint eine Beeinträchtigung der sezernierenden Funktion für Bilirubin und Urobilin (resp. Urobilinogen) das erste Symptom einer Läsion des Leberparenchyms zu sein. Da der Schwellenwert für die Ausscheidung des Urobilins durch die Nieren sehr tief liegt, erscheint das den Leberzellen entschlüpfte und im Blut zurückbleibende Urobilin sofort im Urin. Der Schwellenwert für die Ausscheidung des Bilirubins durch die Nieren liegt aber sehr hoch; das durch die Leberzellen nicht ausgeschiedene Bilirubin bleibt also im Blutstrom kreisen.

Auf diese Weise läszt sich das Entstehen des (acholurischen) Ikterus in jenen Fällen, in denen keine Verlegung der Gallenwege nachgewiesen werden kann, wie wir meinen, auf einfache Weise und ohne Zuhülfenahme gekünstelter Hilfshypothesen erklären. Es wäre unrichtig, diese Form von Ikterus eine anhepatische zu nennen. Alles Bilirubin, oder ein groszer Teil desselben, wird ja in der Leber gebildet, wenn auch nicht in den Bilirubin-ausscheidenden Zellen. Auch den Namen haematogenen Ikterus halte ich für unrichtig, einmal weil jeder Ikterus in gewisser Hinsicht haematogen ist, insofern als das Bilirubin immer aus Haemoglobin entsteht; sodann weil das Bilirubin, so weit unser Wissen bisher reicht, niemals im freien Blutstrom gebildet wird. Diese Form des Ikterus ist die Folge einer ungenügenden Kapazität der Leberzellen, das Bilirubin auszuscheiden, sei es relativ — infolge einer zu groszen Zufuhr — sei es absolut — durch eine funktionelle Beschädigung jener Zellen, z. B. infolge kardialer Stauung. Dieser Ikterus beruht also auf einer herabgesetzten Funktion der Leberzellen. Daher dürfte es sich vielleicht empfehlen, ihn mit dem Namen: *dynamischer Ikterus* zu bezeichnen im Gegensatz zum *mechanischen Ikterus*, der infolge einer Verlegung der Gallenwege entsteht.

Es besteht zwischen dem dynamischen und dem mechanischen Ikterus ein wichtiger Unterschied: bei der ersten Form ist das Bilirubin im Serum jener Gallenfarbstoff, welcher, nach seiner Bildung ins Blut aufgenommen, der Ausscheidung durch die

Leberzellen entschlüpft ist. Beim mechanischen Ikterus ist das Serumbilirubin jener Gallenfarbstoff, welcher bereits durch die Leberzellen ausgeschieden worden war und sich in den Gallenwegen befunden hatte.

Die Möglichkeit, dasz zwischen beiden Bilirubinarten irgend ein Unterschied bestände, kann nicht von vornherein geleugnet werden. Es ist immerhin denkbar, dasz während der Ausscheidung durch die Leberzellen oder während der Berührung mit der Wand der Gallengänge eine geringe Veränderung in der Struktur des Bilirubinmoleküls stattfindet oder vielleicht auch Stoffe hinzutreten, die seine Eigenschaften einigermaszen verändern.

Wir haben früher (§ 7, S. 44) gesehen, dasz es in der Tat notwendig ist, zwei Modalitäten des Bilirubins zu unterscheiden, je nachdem dieses sich einerseits in der Galle, oder im Serum bei Stauungsikterus, andrerseits im Serum von Patienten mit nicht mechanischem Ikterus vorfindet: vollständige und schnelle Kuppelung ohne Alkohol, starke Adsorption durch das Eiweiszpräzipitat, schnelle Oxydation im ersteren Falle — träge und unvollständige Kuppelung ohne Alkohol, langsamere Oxydation, geringe Adsorption im andern Fall.

In der Tat scheint also die Trennung in dynamischen und in mechanischen Ikterus ihren Ausdruck in chemischen Eigenschaften des Bilirubins zu finden.

Schluszbetrachtungen von praktisch-klinischer Bedeutung.

Obwohl im Vorhergehenden bereits hie und da auf gewisse Schluszfolgerungen von praktisch-klinischer Bedeutung, zu welchen die quantitative Bestimmung des Bilirubins im Blut Anlasz giebt, aufmerksam gemacht wurde, sei es gestattet, sie hier noch einmal im Zusammenhang kurz anzuführen:

a) Bei Patienten, bei denen die Diagnose zwischen okkultem Karzinom und perniziöser Anaemie schwankt, spricht ein niedriger Bilirubingehalt des Blutserums sehr stark gegen perniziöse Anaemie und für die Diagnose auf Karzinom.

b) Bei allen sekundären Anaemien, bei allen ernsten Anaemien nicht-perniziöser Art im Sinne Hunter's, bei den Leuk-

aemien, bei der Chlorose, findet man, falls nicht besondere Komplikationen vorliegen, den Bilirubingehalt des Serums nicht erhöht, gewöhnlich abnorm niedrig.

c) Bei einem hohen Bilirubinwert nehmen wir nur dann Karzinom an, wenn die eine oder die andere Komplikation (Metastasen der Gallenwege oder der Leber, Daniederliegen der Herztätigkeit) diesen hohen Wert erklären.

d) Bei chronischer interstitieller Nephritis deutet ein hoher Bilirubinwert entweder auf eine Insufficienz des Herzmuskels oder auf eine zufällige Komplikation von Seiten der Leber oder der Gallenwege.

e) Bei Lungenemphysem deutet ein hoher Bilirubinwert (es sei denn, dasz zugleich eine Erkrankung der Leber oder der Gallenwege bestände) auf eine ungenügende Tätigkeit des Herzmuskels.

f) Wenn ein Patient Anfälle hat, welche den Gedanken an Gallensteine erregen, kann es nützlich sein, während des Anfalls oder gleich nachher eine Bilirubinbestimmung des Blutserums zu machen. Findet man dann einen höheren Wert, als für diesen Patienten normal ist (festzustellen durch Bestimmung während eines völlig freien Intervalls), dann spricht dies für Gallensteine oder jedenfalls für einen mit behindertem Abflusz der Galle einhergehenden Prozess, es sei denn, dasz der Patient an haemolytischem Ikterus litte.

g) Wenn man bei der Punktion einer serösen Höhle eine blutige Flüssigkeit erhält und in Zweifel ist, ob die Blutung während der Punktion entstanden ist, oder ob bereits Blut in der Flüssigkeit vorhanden war, so mache man eine Bestimmung des Bilirubingehaltes der Punktionsflüssigkeit und des durch Venenpunktion (oder Einstich in den Finger) erhaltenen Blutserums. Findet man in der Punktionsflüssigkeit einen höhern Bilirubinwert als in dem zur selben Zeit entnommenen Blut, so kann man mit Sicherheit darauf schlieszen, dasz sich bereits zuvor Blut in die seröse Höhle ergossen hatte (es sei infolge einer Blutung oder einer Entzündung, infolge von Tuberkulose, malignem Tumor oder aus irgend einer andern Ursache). Natürlich ist es möglich, dasz dann obendrein noch eine geringe Blutung während der Punktion stattgefunden hat.

h) Wenn man bei einer Lumbalpunktion eine blutige Flüssigkeit erhält und in der zentrifugierten Flüssigkeit Bilirubin

nachweisen kann, dann beweist dieses dasz, es sei infolge von Entzündung oder Gehirntumor, es sei infolge von Blutergusz, bereits Blut in dem Subarachnoïdalraum vorhanden war, ehe die letzte Punktion vorgenommen wurde. Natürlich ist es möglich, dasz in diesem Falle doch auch noch ein Blutergusz während der letzten Punktion stattgefunden hat.













